Über die Gaschromatographie bei höheren Arbeitstemperaturen und über ihre Anwendung auf Fettsäuremethylester

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Hamburg

vorgelegt von
Hans Oertel
aus Magdeburg

Hamburg 1961

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548107_0090

Über die Gaschromatographie bei höheren Arbeitstemperaturen und über ihre Anwendung auf Fettsäuremethylester

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Hamburg

vorgelegt von
Hans Oertel
aus Magdeburg

Hamburg 1961

Genehmigt von der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Hamburg auf Antrag von Herrn Prof. Dr. E. Jantzen.

Hamburg, den 31 Mai 1961

.....Kosswig.....
(Dekan)

R. U. TRZ.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom März 1959 bis März 1961 in der Abteilung für Technische Chemie des Chemischen Staatsinstitutes der Universität Hamburg unter Leitung von Herrn Prof. Dr. E. Jantzen durchgeführt.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. E. Jantzen, möchte ich für viele wertvolle Anregungen und wohlwollende Unterstützung herzlich danken.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
A	Einleitung	6
B	Gaschromatographie, Wirkungsweise und Aufbau von Gaschromatographen	7
C	Gaschromatograph mit Hitzdraht-Wärmeleitzelle	
	1. Allgemeines	11
	2. Thermostat	11
	3. Strömungsschema des Trägergases und elektrische Schaltung	12
	4. Gas-Umleitungssystem mit Einspeisvorrichtung	15
	5. Temperaturregelung	15
	6. Empfindlichkeit der Anzeige und Eignung der Zelle	17
D	Entwicklung einer Anzeigezelle unter Verwendung der Flammen-Ionisation	
	1. Allgemeines	19
	2. Aufbau der gesamten Apparatur	20
	3. Aufbau der Flammen-Ionisationszelle	21
	a) Gas-Zuführung	23
	b) Brenndüse	23
	c) Brennkammer	25
	d) Meßelektroden	26
	4. Elektronischer Verstärker	28
	5. Hochspannungsgerät	28
	6. Empfindlichkeit der Anzeige in Abhängigkeit von der Zellspannung	29
	7. Proportionalität der Anzeige	32
	8. Beurteilung der Flammen-Ionisationszelle	34
E	Der Ionen-Umleitungs-Detektor	
	1. Allgemeines	36
	2. Wirkungsweise der Zelle	37
	3. Proportionalität der Anzeige	37
	4. Abhängigkeit der Anzeige von der Zellspannung	38
	5. Anwendungsmöglichkeiten	40

		Seite
F	Gaschromatograph mit ß-Strahlen-Ionisationszelle	
	1. Allgemeines	41
	2. Strömungsschema des Trägergases und Blockschaltbild	42
	3. Thermostat mit Heizung und Temperaturregelung	42
	4. Thermostatenkopf mit dem Einspeisblock und ß-Strahlen-Ionisationszelle	44
	5. Anzeigeempfindlichkeit und Meßbreite der Argon-ß-Strahlen-Ionisationszelle	46
	6. Anwendung des Gerätes	48
G	Aufbau eines Gaschromatographen für präparative Trennungen	
	1. Allgemeines	49
	2. Aufbau der Apparatur und Strömungsschema der Gase	50
	3. Luftbad-Thermostat und Temperatur-Regelung	51
	4. Thermostatenkopf	54
	5. Trennungsbeispiel für ein Gemisch von zwei Fettsäuremethylestern	57
H	Theoretische Beziehungen für die Wirkungsweise und Beurteilung gaschromatographischer Trennungen	
	1. Charakterisierung der Substanz	59
	2. Trennleistung	61
	3. Empfindlichkeit der Anzeige	61
I	Gaschromatographische Analyse von Fettsäuremethylestern	
	1. Allgemeines	63
	2. Trennsäulen	64
	a) Allgemeines	64
	b) Das Imprägnieren und Füllen der Trennsäulen	65
	c) Kolonnen mit unpolarer stationärer Phase	66
	d) Kolonnen mit polarer stationärer Phase	69
	3. Herstellung und Eigenschaften von Polyestern	71
	4. Verwendung verschiedener Kolonnen für die Analyse von Methylestern	74
	5. Praktische Anwendung der Gaschromatographie auf die Analyse von Fettsäuren	80
J	Zusammenfassung	82
K	Literaturverzeichnis	85

A Einleitung

Bei der Analyse von Gemischen natürlicher Fettsäuren leistete die Gaschromatographie im hiesigen Institut seit einiger Zeit nützliche Dienste. Es stand ein selbst gefertigtes Gerät zur Verfügung, dessen Bau in meiner Diplomarbeit 1) beschrieben ist. Sein Detektor, eine mit Thermistoren ausgerüstete Wärmeleitzelle, befriedigte auf die Dauer nicht, weil die aus Halbleitern bestehenden Widerstände den verlangten Temperaturen von 175 bis 250°C nicht lange standhielten. Als andere Möglichkeiten boten sich vornehmlich an: die bekannte Messung der Wärmeleitfähigkeit mit Hilfe von heißen Metalldrähten und insbesondere zwei neuerdings beschriebene Anzeigemethoden, nämlich erstens die nach Lovelock 2), die mit ß-Strahlen-Ionisation arbeitet, und zweitens die von McWilliam und Dewar 3), die auf Flammen-Ionisation beruht.

Es galt die Eignung dieser Prinzipien zu prüfen und gegebenenfalls Bauformen zu finden, die sich bei den hohen Arbeitstemperaturen bewährten und bei großer Betriebssicherheit eine möglichst hohe Empfindlichkeit im Vergleich zu den Schwankungen der Grundlinie aufwiesen.

Eine weitere Schwierigkeit für die Gaschromatographie der schwerflüchtigen Fettsäure-methylester bestand darin, Trennsäulen zu finden, die bei den verlangten Arbeitstemperaturen hinreichend stabil blieben, insbesondere waren solche erwünscht, die wegen stark polarer Eigenschaften die Trennung nach der Zahl der Doppelbindungen gestatteten.

Die Gaschromatographie sollte im Institut nicht nur für rein analytische Aufgaben dienen, sondern auch erlauben, präparativ bestimmte Komponenten der Fettsäuregemische abzutrennen, speziell Stoffmengen, die für exakte Destillationen zu klein waren, d.h. Mengen unter 1g bis hinab zu Milligrammen.

Außer diesen gestellten hauptsächlichen Aufgaben mußten noch manche spezielle gelöst werden, wie die der Einspeisung kleiner Substanzproben, der Regelung und Messung der Ströme sowie der Identifizierung von Substanzen auf Grund der Retentionsvolumina.

B Gaschromatographie, Wirkungsweise und Aufbau von Gaschromatographen

Seit der grundlegenden Veröffentlichung von Martin und James 4) über die Methode der Gas-Flüssigkeits-Verteilung sind acht Jahre vergangen. Kaum ein anderes Analysenverfahren hat sich in so kurzer Zeit derart stürmisch entwickelt. Bis zum Ende des Jahres 1957 zählte man bereits etwa 500 Veröffentlichungen über dieses eng begrenzte Gebiet. Seitdem ist ihre Zahl schnell zunehmend gewachsen. Die gesammelten Erfahrungen sind auch in einer Reihe von Monographien zusammengefaßt, wie in denen von A.I.M. Keulemans 5), E. Bayer 6), R. Kayser 7) u.a.

Der Name Gaschromatographie ist aus der Verwandtschaft zu anderen chromatographischen Verfahren hergeleitet. Der Unterschied zur Papier- oder auch der Säulenchromatographie liegt darin, daß man bei der Gaschromatographie als mobile Phase ein Gas verwendet, während die stationäre wie im anderen Falle ein festes Adsorbens oder eine Flüssigkeit als Absorbens ist. Bei der Gaschromatographie liegt also eine Gas-Festkörper- oder Gas-Flüssigkeits-Verteilung vor.

Die Adsorptions-Chromatographie findet Anwendung bei der Analyse von Gasen, während verdampfbare Stoffe fast ausschließlich mit Hilfe der Gas-Flüssigkeits-Verteilung analysiert werden. Nur von dieser Form der Gaschromatographie wird im folgenden die Rede sein.

Der grundsätzliche Aufbau von Gaschromatographen ist aus der Abbildung 1 zu ersehen.

Aus einer Vorratsflasche wird über einen Druckminderer und ein Feinventil ein gleichmäßiger Strom eines Inertgases entnommen. Dieses Gas strömt während des Betriebes stetig durch die Apparatur. Ein Strömungsmesser und ein Manometer kontrollieren den Gasstrom, der über eine Einspeisvorrichtung, die Trennsäule und einen Detektor zu einem zweiten Strömungsmesser gelangt, der es gestattet, die Strömungsgeschwindigkeit des Trägergases am Kolonnen-Ausgang zu kontrollieren.

Die Trennsäule befindet sich in einem Thermostaten, der auf verschiedene Temperaturen eingestellt werden kann. Durch Ändern der Tempera-

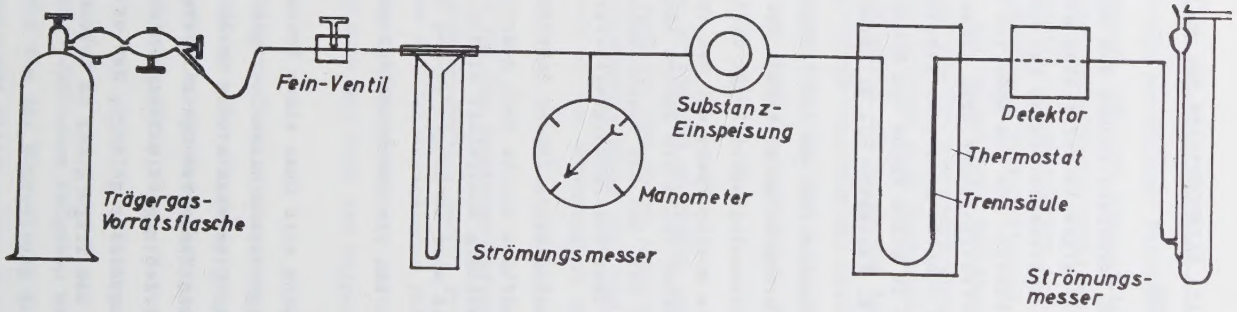

Abbildung 1 Aufbau von Gaschromatographen

tur kann man die Verteilungskoeffizienten und damit die Austrittszeiten der Analysensubstanz anpassen.

Mit Hilfe einer derartigen Apparatur lassen sich praktisch alle Stoffe analysieren, die unzersetzt verdampft werden können oder die bei Raumtemperatur bereits gasförmig vorliegen. Damit ein bestimmtes Stoffpaar getrennt werden kann, muß eine Anzahl von Voraussetzungen erfüllt sein:

1. Es muß ein flüssiges Imprägnierungsmittel gefunden werden, welches für die zu trennenden Komponenten ein Lösungsvermögen besitzt. Die Verteilungskoeffizienten zwischen dem Gas und der stationären Flüssigkeit müssen unterschiedlich sein und in einem solchen Verhältnis zueinander stehen, daß die Stoffe zeitlich getrennt nacheinander aus der Säule treten, ohne daß dabei der Aufwand an Gerät und Zeit erträgliche Grenzen überschreitet.

   Die stationäre Flüssigkeit darf bei der Arbeitstemperatur Dampf oder flüchtige Zersetzungsprodukte nicht in so großem Maße abgeben, daß der Detektor wesentlich belastet wird.

2. Der Detektor muß auf die Art der eingesetzten Stoffe ansprechen, und die Empfindlichkeit sowie der Anzeigebereich müssen groß genug sein, um die vorhandenen Substanzmengen in Gemischen anzuzeigen.

3. Die gaschromatographische Apparatur muß so ausgelegt sein, daß sie das Arbeiten bei den erforderlichen Temperaturen des Thermostaten, der Einspeisvorrichtung und des Detektors gestattet. Für die Reproduzierbarkeit der Analysen ist es erforderlich, daß die Strömungsgeschwindigkeit des Trägergases und die Temperatur des Thermostaten während der Dauer der Analyse, möglichst aber auch für längere Zeit konstant bleiben oder nach einem Programm in wiederholbarer Weise geändert werden können.

Bringt man in den Einspeisblock (s. Abb. 1) eine kleine Menge einer zu analysierenden Substanz, so wird sie dort verdampft und mit dem Trägergasstrom zur Trennsäule transportiert. Hier findet eine Verteilung der einzelnen Bestandteile der Analysensubstanz zwischen der

flüssigen stationären Phase und dem Trägergasstrom statt. Die einzelnen Komponenten treten dann aus der Säule in der Reihenfolge ihrer Verteilungskoeffizienten aus und zwar im Idealfall so, daß je zwei Komponenten durch leeres Gas geschieden sind.

Am Ende der Kolonne befindet sich der Detektor, der anzeigt, ob sich an der Zusammensetzung des Trägergases etwas ändert. Tritt eine Analysensubstanz aus der Kolonne aus, so wird entweder die Änderung einer physikalischen Eigenschaft des Gasgemisches im Verhältnis zum reinen Fragergas angezeigt, wie z.B. bei dem Messen der Wärmeleitfähigkeit und der ß-Strahlen-Ionisation oder es wird die zu analysierende Substanz chemisch verändert und ein dabei auftretender Effekt gemessen, z.B. die Verbrennungswärme oder die Ionisation in einer Flamme. Die vom Detektor abgegebenen elektrischen Spannungen werden im Bedarfsfalle verstärkt und mit einem Linienschreiber als Funktion der Zeit aufgetragen. Man erhält im Idealfall regelmäßige Glockenkurven, die aus der geraden Grundlinie herausragen. Ist die Anzeige proportional der im Gas befindlichen Gewichtsmenge der Analysen-Substanz, so kann man aus der Fläche der Zacken die Menge der vorhandenen Substanz entnehmen.

Die Trennsäulen bestehen aus Rohren von gewöhnlich 4-6 mm lichter Weite, die das Trägermaterial z.B. Schamottemehl enthalten, das für die Gas-Flussigkeitsverteilung mit einem geeigneten Lösungsmittel imprägniert ist. In diesem Fall soll das feste Trägermaterial keinerlei Adsorptionskräfte auf die zu analysierenden Stoffe ausüben, weil sonst sowohl die Trennleistung als auch die Nachweisgrenze vermindert werden; dieser Effekt wird im Diagramm sichtbar durch die Schwanzbildung an den Spitzen. Das Trägermaterial hat nur die Aufgabe, der stationären Flüssigkeit eine hinreichende Oberfläche zu geben. Der selektive Effekt soll allein durch die Flüssigkeit bewirkt werden, deren Art der Trennaufgabe angepaßt werden muß.

C Gaschromatograph mit Hitzdraht-Wärmeleitzelle

1. Allgemeines

Die meisten der heute verwendeten gaschromatographischen Geräte enthalten als Detektoren Wärmeleitzellen. Solche Zellen zeichnen sich durch einfache Konstruktion aus und geben ohne weitere Verstärkung genügend elektrische Meßspannung ab, um Kompensationsschreiber unmittelbar zu betreiben. Ihre elektrische Schaltung ist übersichtlich und betriebssicher, so daß sie leicht zu bedienen sind.

Die Wärmeleitzelle selbst besteht in den meisten Fällen aus einem stabilen Metallgehäuse, das eine große Wärmekapazität besitzt, um schnelle Temperaturänderungen auszuschließen. Die Meßfühler, die auswechselbar in dieses Gehäuse eingesetzt werden, sollen einen möglichst hohen Temperaturkoeffizienten des Widerstandes haben. Außerdem wird verlangt, daß die Fühler Dauertemperaturen aushalten, die um 50 - 100° über den verwendeten Thermostatentemperaturen liegen. Es dürfen auch keine katalytischen Reaktionen an den Fühlern mit dem Trägergas bzw. den zu analysierenden Stoffen eintreten, da die damit verbundenen Wärmetönungen die Messungen stören können.

Thermistoren oder NTC-Widerstände besitzen thermische Widerstandskoeffizienten, die bei Temperaturen unter 150°C bis zu einer Zehnerpotenz größer sein können als die von Metalldrähten. Bei Dauerbetrieb in höheren Temperaturbereichen ändert sich jedoch ihr Gefüge und ihr Widerstand meist ziemlich schnell. Besonders bei Anwesenheit von Wasserstoff werden sie nach kurzer Betriebszeit unbrauchbar.

Für die Analyse von Fettsäuremethylestern braucht man Thermostatentemperaturen über 150°, nicht selten sogar oberhalb 225°C, mithin höhere, als man sie den Thermistoren zumuten darf. Ich habe daher zu Beginn dieser Arbeit eine Wärmeleitzelle gebaut, die zwei Wolframwendeln enthielt, und dazu eine Brückenschaltung erstellt, die sorgfältig auf Kontaktsicherheit und Konstanz der Widerstände ausgerichtet war.

2. Thermostat

Der Thermostat 1) bestand aus einem Schrank, der wärmeisolierende

Wände besaß und mit einem Luft-Umlauf-Ventilator ausgestattet war. Die Innenmaße, 20 cm Ø, 80 cm Höhe, erlaubten das Verwenden von haarnadelförmigen Kolonnen, die eine gestreckt gerechnete Länge von 1.50 m besaßen. Für die Beheizung war eine Wendel aus Widerstandsdraht vorgesehen, die maximal 1000 W aufnahm und von der Luft umspült wurde. Das Einstellen der Temperaturen bis hinauf zu ca. 275°C erfolgte mit einem Ringkern-Regeltransformator.

3. Strömungsschema des Trägergases und elektrische Schaltung

Das Strömungsschema des Trägergases und die elektrische Schaltung der Wärmeleitzelle mit dem Kompensationsschreiber sind durch die Abbildung 2 wiedergegeben. Das Trägergas, Wasserstoff, wird einer handelsüblichen Stahlflasche entnommen und mit einem zweistufigen Druckminderer (Typ Saturn-Saturn, Firma Dräger, Lübeck) auf einen passenden Druck reduziert. Über einen Rotamesser gelangt das Gas zur Einspeisvorrichtung mit dem Gas-Umleitungssystem. Vor der Einspeisvorrichtung wird ein Teilstrom des Gases abgezweigt und über ein Vorheizrohr dem Vergleichszweig VZ in der Wärmeleitzelle zugeführt. Der Hauptstrom fließt durch das Gas-Umleitungssystem entweder über den Einspeisblock oder direkt zur Trennsäule im Thermostaten. Am Ende der Trennsäule befindet sich der Meßzweig MZ der Wärmeleitzelle. Nach Passieren der Zelle gelangt das Gas ins Freie oder wird durch einen Seifenblasen-Flußmesser geschickt, mit dem man die Strömungsgeschwindigkeit am Kolonnen-Ausgang bestimmen kann.

Das Auftrennen des Trägergasstromes in zwei getrennte Zweige, von denen der eine die Vergleichsseite, der andere die Säule und die Meßseite der Wärmeleitzelle durchströmt, hat den Vorteil, daß in beiden Meßkammern der Wärmeleitzelle etwa die gleichen Bedingungen bezüglich des Druckes und der Strömungsgeschwindigkeit aufrecht erhalten werden können. Dies wirkt sich vorteilhaft auf die Grundlinienstabilität der Anzeige aus. Der Nachteil ist der, daß man doppelt so viel Trägergas braucht, wie mit einer Anordnung, in der nur ein Gasstrom zunächst die Vergleichszelle, dann Einspeisblock, Trennsäule und Meßzelle durchläuft. Dieser Nachteil bleibt aber gering, wenn man Wasserstoff benutzt und nicht das wesentlich teurere Helium.

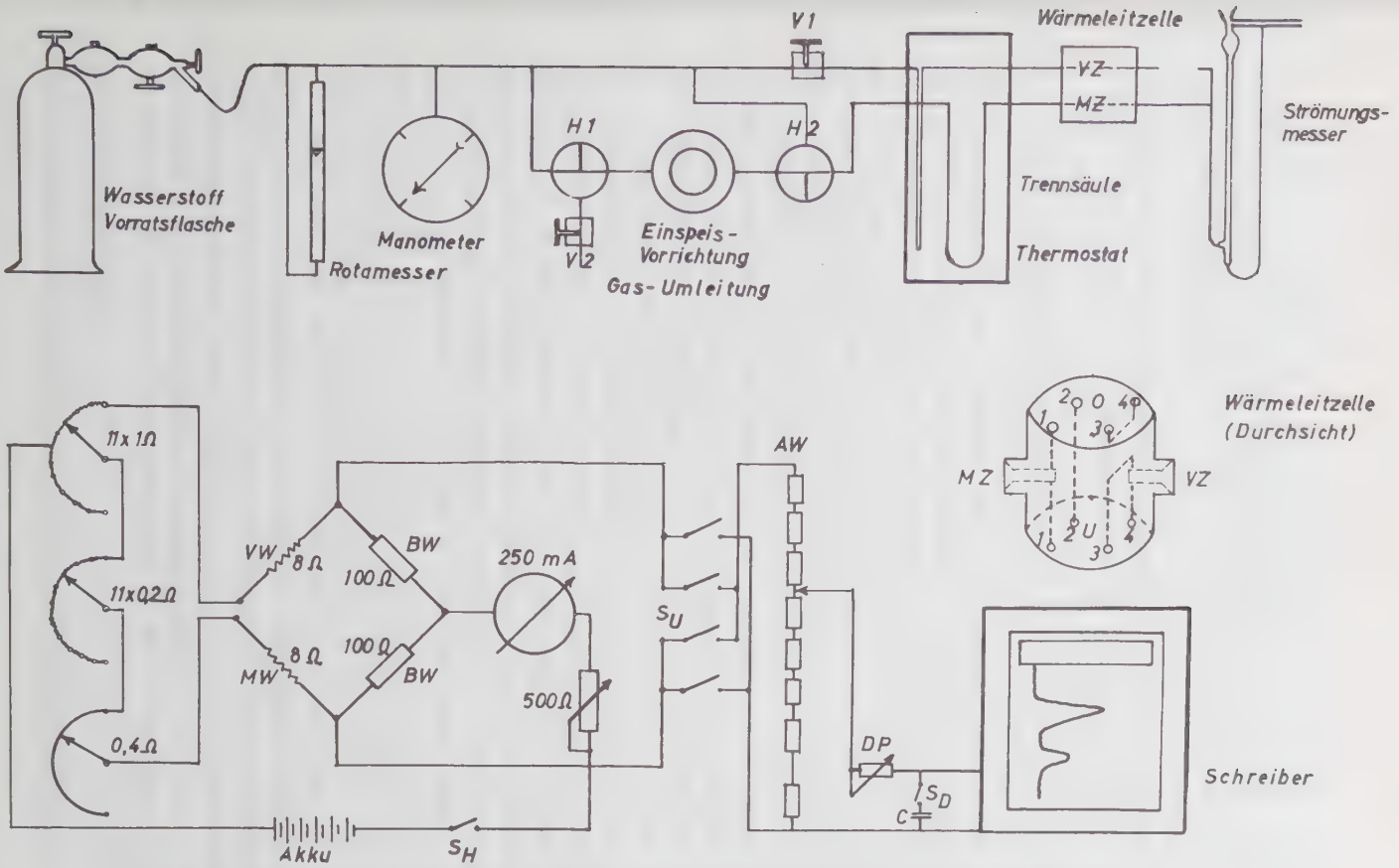

Abbildung 2 Gaschromatograph mit Wärmeleitzelle. Strömungsschema und Schaltbild der Zelle

Die Wärmeleitzelle, die schematisch in der Abbildung 2 gezeigt ist, trägt am Kopf vier Verschraubungen zum Anbringen von maximal zwei Trennsäulen. Von den vier Anschlüssen sind zwei innerhalb des Stahlblocks miteinander durch eine enge Bohrung verbunden (3-4). Auf der Unterseite sind gleichfalls vier Verschraubungen angebracht. Die Verschraubung (2 U) ist direkt mit der gegenüberliegenden (2 O) verbunden und dient dazu, das Trägergas in die Trennsäule zu leiten. Der Anschluß (1 O) leitet das aus der Kolonne austretende Gas in die Meßzelle und weiter zu (1 U) an der Rückseite. Sollen zwei Säulen verwendet werden, so verbindet die erste die Verschraubungen (1-3 O) und die zweite (4-2 O). Die beiden letzten Verschraubungen (3-4 U) dienen als Anschlüsse für den Vergleichszweig der Wärmeleitzelle.

Der untere Teil der Abbildung 2 zeigt die elektrische Schaltung der Wärmeleitzelle. Die Stufenschalter 11x10hm, 11x0.2 Ohm und das Feinpotentiometer 0.4 Ohm dienen dazu, die Meßbrücke ins Gleichgewicht zu setzen. MW und VW sind die Widerstände im Meß- und Vergleichszweig der Wärmeleitzelle. BW sind feste Widerstände. Der Brückenstrom wird mit dem Potentiometer von 500 Ohm reguliert und mit dem Milliampereremeter gemessen. Su ist ein Polwender, der so eingestellt wird, daß bei der Analyse positive Ausschläge am Schreiber entstehen. AW stellt einen Stufenschalter dar, der es gestattet, die zu messende Spannung auf 1/2, 1/4 ..... 1/256 zu reduzieren. Über eine einschaltbare Dämpfung DP und C ist der elektronische Kompensationsschreiber angeschlossen. Die zum Speisen der Brücke benötigte Spannung wird einem Akkumulator über den Hauptschalter S_H entnommen.

Die elektrischen Verbindungen sind mit 1.5 mm^2 Kupferdraht hergestellt, so daß der Widerstand der Leitungen klein gegenüber den Meßwiderständen bleibt. Die Rastenschalter 11x1 Ohm und 11x0.2 Ohm sind hochwertige keramische Schalter mit großer Kontaktsicherheit und eingelöteten Festwiderständen. Das Feinpotentiometer mit 0.4 Ohm Gesamtwiderstand ist nach meinen Angaben gebaut. Als Schleifkontakt dient ein Silber-Stift, der mit einer Feder fest auf den Schleifdraht gepreßt wird. Der Zuleitungsdraht ist direkt an den Silberstift gelötet.

Als Meß-Widerstände dienen Wendeln aus Wolfram-Draht (ca. 8 Ohm kalt)

die zwischen je zwei Platin-Mantel-Drähten gespannt sind und sich mit einer Führungsstange aus Glas gasdicht von der Seite in die Wärmeleitzelle einführen lassen.

Aus zehn angefertigten Widerständen konnten durch Ausmessen drei zueinander passende Paare zusammengestellt werden.

4. Gas-Umleitungssystem mit Einspeisvorrichtung

Die vorgesehene Art der Einspeisung durch Zertrümmern einer kleinen Ampulle (s. Seite 20) verlangt ein Umleitungssystem für das Trägergas. Wenn man mit einer Wärmeleitzelle als Detektor arbeitet, so soll der Strom des Trägergases möglichst nicht unterbrochen werden, weil jede Änderung der Strömungsgeschwindigkeit in der Zelle auf die Anzeige wirkt und weil nach Wiederherstellen der alten Strömungsgeschwindigkeit eine nicht unbeträchtliche Zeit vergeht, bis sich der ursprüngliche Gleichgewichtszustand wieder eingestellt hat. Während des Einbringens der Glasampulle in den Zertrümmerer muß das Gas deshalb mit Hilfe von Hähnen so umgeleitet werden, daß es direkt in die Kolonne strömt. Es läßt sich dabei nicht vermeiden, daß wenigstens ein Hahn während des Betriebes auch von der im Zertrümmerer verdampften Substanz durchströmt wird. Um eine Kondensation auszuschließen, muß dieser Hahn mindestens so heiß wie die Trennsäule gehalten werden, d.h. daß dieser Hahn selbst bei Temperaturen von 225°C einwandfrei arbeiten und völlig dicht sein muß. Versuche, mit Hilfe von Teflon geeignete Hähne herzustellen, führten trotz mancher Modifikationen nicht zum Erfolg. Die große Wärmeausdehnung dieses Materials und sein Fließvermögen bei höheren Temperaturen bewirkten, daß in relativ kurzer Zeit schädliche Deformationen eintraten.

Erst mit Dreiweghähnen, die aus Messing mit hoher Präzision gearbeitet waren und eine Druck-Schmierung für Silikonfett besaßen, konnte die dauernde Dichtigkeit bei Temperaturen bis 225°C erreicht werden. Die Abbildung 3 zeigt Einzelheiten der Konstruktion.

5. Temperaturregelung

Für das Regeln der Temperaturen im Thermostaten war als Wärmefühler

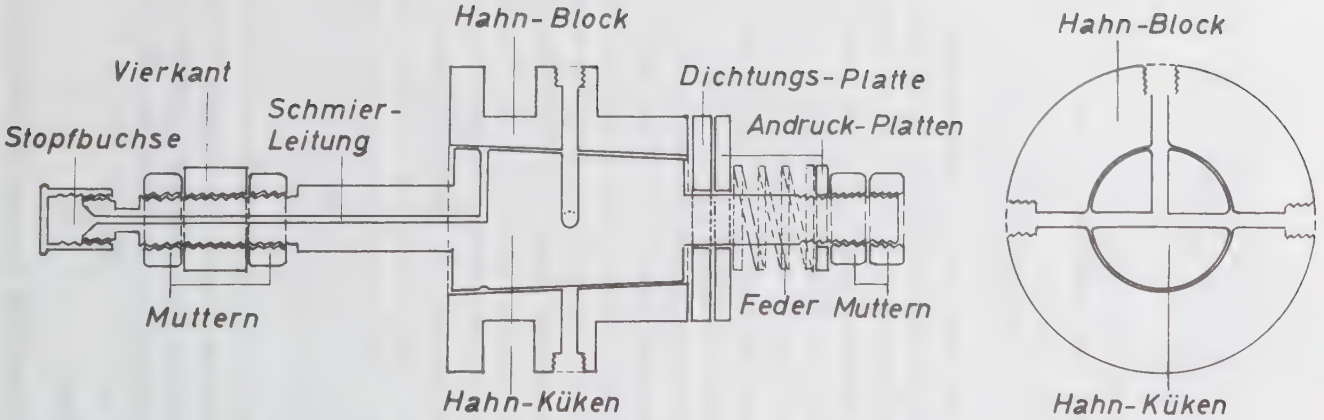

Abbildung 3 Dreiweg-Hahn für das Umleiten des Trägergases bei hohen Temperaturen

ein in Brückenschaltung liegender NTC-Widerstand vorgesehen 1). Ein Multiflex-Spiegelgalvanometer (B. Lange, Berlin) zeigte die Verstimmung der Meßbrücke infolge einer Temperaturänderung im Thermostaten an und schaltete über zwei lichtelektrische Zellen Teile des Hauptstromes an oder ab. Als Spannungsquelle für die Brücke diente ein stabilisiertes Netzgerät. Es erwies sich als zweckmäßig, die Einstellgeschwindigkeit des Lichtzeigers etwas zu dämpfen. Mit dieser Anordnung lassen sich eingestellte Temperaturen im Bereich um 150°C auf etwa $\pm$ 0.04° im Thermostaten konstant halten.

6. Empfindlichkeit der Anzeige und Eignung der Zelle

Während des Betriebes wurde der Strom, der durch die Meßbrücke floß, möglichst klein gehalten, um einerseits die Hitzdrähte zu schonen, andererseits, um möglichst Zersetzungen oder Abscheidungen von Substanz an dem Meßdraht zu vermeiden, die bei zu heißen Fühlern leicht auftreten.

Ausreichende Anzeigen konnten mit einem Strom von 30 - 40 mA erhalten werden. Bei 200°C Zelltemperatur wurde damit für Palmitoleinsäuremethylester eine Empfindlichkeit der Zelle von S = 100 (ml.mV/mg) nach Dimbat (s. Seite 62) erreicht. Das bedeutet, daß für Fettsäuremethylester mittlerer Austrittszeiten bei 200°C eine Substanzmenge von etwa 0.02 mg ausreicht, um eine ausmeßbare Spitze zu geben. Um einen über die Schreibbreite reichende Spitze zu bekommen, braucht man etwa 1 mg Substanz.

Durch Verwenden einer Zelle mit vier Wärmefühlern, die gleichzeitig die vier Zweige der Brückenschaltung bilden, und Einsatz eines Kompensationsschreibers mit 1mV Vollausschlag hätte man die maximale Empfindlichkeit der Anordnung noch verdoppeln bis verfünffachen können. Mehr wäre jedoch auch nicht mit einer zusätzlichen Gleichspannungsverstärkung zu erreichen gewesen, da der Störpegel bei dieser Empfindlichkeit schon sehr groß gewesen wäre.

Es besteht auch wenig Aussicht, die Empfindlichkeit von Wärmeleitzellen bei höheren Temperaturen noch wesentlich steigern zu können. Der Einfluß der Strömungsgeschwindigkeit, der Zellentemperatur, der

Speisespannung und der Thermokräfte setzen die Grenzen, die nicht ohne großen Aufwand überschritten werden können.

Für bestimmte Zwecke wird die Wärmeleitzelle ihre Bedeutung behalten, nämlich für die Anzeige von H_2, N_2, O_2, CO, CO_2, O_2, H_2O oder andere, die sich mit Ionisationsdetektoren schwer oder gar nicht nachweisen lassen. Auch in Geräten für Routine-Analysen wird die Wärmeleitzelle wegen ihres einfachen Baues vorteilhaft bleiben, weil die Arbeitstemperaturen häufig in einem mittleren Bereich liegen und die Ansprüche an die Empfindlichkeit hier meist nicht hoch sind.

Im folgenden wird gezeigt werden, daß sich mit Ionisationsdetektoren bei hohen Temperaturen wesentlich größere Empfindlichkeiten bei besserer Stabilität erreichen lassen.

D Entwicklung einer Anzeigezelle unter Verwendung der Flammen-Ionisation

1. Allgemeines

Von McWilliam und Dewar 3) wurde als Detektor für die Gaschromatographie eine Flammen-Ionisationszelle hoher Empfindlichkeit beschrieben. Das Prinzip beruht darauf, daß in einer Flamme, in die organische Molekeln gelangen, elektrisch geladene Teilchen entstehen. In einem elektrischen Feld liefern diese Ionen einen Strom, der im gaschromatographischen Detektor, je nach der Menge und Art der eingesetzten organischen Substanz, Werte von 10^{-14} bis 10^{-6}A haben kann. Diese Ströme werden so weit verstärkt, daß sie mit Hilfe eines Linienschreibers in Abhängigkeit von der Zeit aufgezeichnet werden können.

Die beim Eintritt von organischer Substanz in eine Wasserstoff-Flamme sich abspielenden Reaktionen sind außerordentlich vielfältig. Über die Bildung von Ionen bei diesem Vorgang bestehen verschiedene Theorien. Eine kurze Darstellung findet sich bei Onkiehong 8). Neben einer thermischen Ionisation der organischen Moleküle spielt nach Stern 9) eine thermische Emission von Elektronen aus Kohleteilchen, die bei der Verbrennung gebildet werden, eine wesentliche Rolle. Sicher wird eine Vielzahl von verschiedenen Teilchen gebildet, die sich in Masse und Ladung unterscheiden. Die Art der gebildeten Ionen ist vor allem auch von der Natur der eingesetzten Substanz abhängig.

Flammen-Ionisationszellen sind bisher fast nur für den Betrieb mit Kapillar-Säulen als höchst empfindliche Detektoren beschrieben 10, 11, 12). Daß mit Flammen-Ionisationszellen lange Zeit hauptsächlich bei tiefen Temperaturen gearbeitet wurde, mag daran liegen, daß die Isolierung der einen Elektrode der Zelle, die durchweg an die Austritts- und Brenndüse angeschlossen wird, besonders bei hohen Temperaturen Schwierigkeiten bereitet.

Im folgenden soll über Versuche berichtet werden, die den Aufbau einer Flammen-Ionisationszelle zum Ziele hatten. Diese Zelle sollte mit den üblichen, gefüllten Trennsäulen bei hohen Temperaturen betrieben werden und speziell für die Analyse von Fettsäuremethylestern dienen.

2. Aufbau der gesamten Apparatur

Für diese Arbeiten wurde im wesentlichen die Apparatur benutzt, die bisher mit Wärmeleitzellen betrieben wurde 1). Anstelle der Wärmeleitzelle, die auf dem Boden des Luftbadthermostaten montiert war, wurde ein Teller mit Verschraubungen zum Aufstecken und Abdichten der Trennsäule angebracht. Auf diesen Teller konnten bis zu vier haarnadelförmige Trennsäulen von je 1.50 m Länge geschraubt werden, so daß eine maximale Länge von 6 m auf diese Weise erreicht werden konnte. Die Flammen-Ionisationszelle sollte außerhalb des Thermostaten, seitlich angebracht werden. Zum Befestigen der Zelle wurde an die eine Seite des Thermostaten eine Halterung geschraubt, die ein genaues Justieren der Zelle sowohl in vertikaler als auch in horizontaler Richtung ermöglichte.

Zum Einspeisen der Substanz diente der bewährte Kapillaren-Zertrümmerer 1). Mit diesem Gerät werden kleine Glasampullen, in welche die gewünschtenfalls eingewogene Substanz eingeschmolzen ist, im geeigneten Augenblick zertrümmert. Ist der Einspeisblock heiß genug, so verdampft die Substanzprobe momentan und wird durch das Trägergas zur Kolonne transportiert.

Dieses Verfahren hat für wissenschaftliches Arbeiten Vorteile, denn es erlaubt, Bruchteile eines mg einer Substanz verlustlos zur Analyse zu bringen, was weder mit den sonst üblichen Mikrospritzen noch mit Mikropipetten möglich ist. Ein weiterer Vorteil besteht darin, daß man ganze Analysenreihen in geschützter Form fertig vorbereiten kann, die dann in geeigneter Folge eingesetzt werden. Auch Substanzen, die in fester Form vorliegen, können leicht eingeführt werden.

Das für den Betrieb des Kapillaren-Zertrümmerers notwendige Gas-Umleitungssystem kann bei Verwenden der Flammen-Ionisationszelle und richtiger Schaltung des Gasstromes außerhalb des Thermostaten angebracht und bei Zimmertemperatur betrieben werden, weil der Gasstrom während des Einspeisens ohne Schaden für kurze Zeit unterbrochen werden darf. So genügen hier gute Druckhähne aus Glas, die leicht zu beschaffen sind.

Als Trägergas dient nachgereinigter Stickstoff (99.9-proz., Linde,

Hannover). Gewöhnlicher handelsüblicher Stickstoff ist wegen der Empfindlichkeit der Trennsäulen gegenüber Sauerstoff bei hohen Temperaturen wenig geeignet.

Der für die Flammen in der Ionisationszelle notwendige Wasserstoff wird dem Trägergasstrom kurz vor Erreichen der Brennkammer zugemischt. Dieses Verfahren mit zwei Gasströmen erscheint auf den ersten Blick etwas umständlich, denn man könnte einfacher das Brenngas Wasserstoff vorher als Trägergas benutzen. Aber erstens führt Stickstoff in der Säule wegen seines kleineren Diffusions-Koeffizienten zu schärferen Trennungen und zweitens läßt sich die Mischgasflamme leichter regeln und gibt auch eine gleichmäßigere Null-Linie. Das Strömungsschema der Apparatur ist in der Abbildung 4 dargestellt. Das Trägergas, nachgereinigter Stickstoff, wird über einen Druckminderer DM und ein Feinregelventil V2 der Vorratsflasche entnommen. Ein Kapillar-Strömungsmesser SM und ein Manometer M2 kontrollieren den Gasstrom, der über das Gas-Umleitungssystem H2, H3 und den Einspeisblock E zur Kolonne gelangt. Das aus der Kolonne strömende Gas tritt in die Flammen-Ionisationszelle FIZ ein. Das Brenngas, Wasserstoff, wird gleichfalls über einen Druckminderer DM und ein Feinventil V1 der Vorratsflasche entnommen. Über einen Strömungsmesser SM, Manometer M1 und den Hahn H1 wird es dem Trägergas unterhalb der Brenndüse zugemischt. Die für die Verbrennung nötige Luft wird der Preßluft-Leitung entnommen, mit einem Reduzierventil auf einen passenden Druck gebracht und nach Passieren eines Wattefilters WF der Zelle zugeführt. Die Hähne H2 und H3 mit dem Ventil V3 dienen der Gas-Rückspülung während des Einführens der Glaskapillare in den Block E. Mit dem Hahn H1 kann man den Wasserstoffstrom unterbrechen und danach mit dem Seifenblasen-Flußmesser (S) die Strömungsgeschwindigkeit am Kolonnen-Ausgang messen.

3. Aufbau der Flammen-Ionisationszelle

Die Teile einer Flammen-Ionisationszelle sind folgende:

a) Die von der Säule kommende Gaszuleitung, die in der Kammer zum Mischen des Trägergases mit dem Brenngas endet. Das gesamte System muß so heiß gehalten werden, daß keine Kondensation

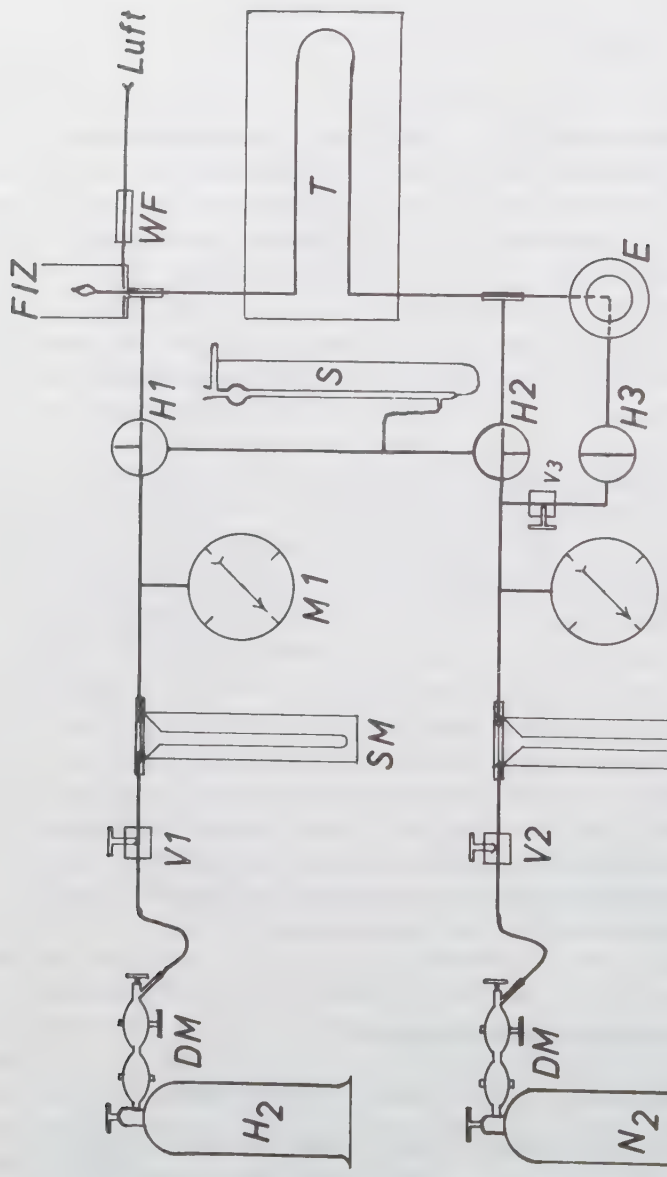

Abbildung 4 Gaschromatograph mit Flammen-Ionisationszelle - Strömungsschema

der vom Trägergasstrom transportierten Analysensubstanz eintritt.

b) Die Brenndüse, die gut zugänglich sein soll, um möglicherweise auftretende Verstopfungen schnell beseitigen zu können. Sie soll aus nicht rostendem Material bestehen und muß bis zur Spitze so heiß gehalten werden, daß keine Kondensation stattfindet.

c) Die Brennkammer mit der Zuführung für die Verbrennungsluft. Die Kammer trägt die Meßelektroden. Die Luft soll so in die Zelle treten, daß die Flamme gleichmäßig brennt und die Abgase schnell weggeführt werden.

d) Die Elektroden, von denen die eine mit einer positiven Spannungsquelle von 50 - 300 V verbunden ist und sich unterhalb der Flamme befindet. Die zweite Elektrode wird oberhalb der Flamme angebracht und mit dem Eingang eines hochohmigen Meßverstärkers verbunden.

a) Gas-Zuführung

Das aus der Trennsäule austretende Trägergas wird mit einem Kupferrohr von 2 mm innerem Durchmesser aus dem Thermostaten geführt und mit Wasserstoff vermischt. Sowohl die Trägergasleitung als auch die Wasserstoff-Zuleitung werden elektrisch beheizt. Die Heizung der Trägergasleitung muß sogar bis in den Thermostaten geführt werden, um lokale Abkühlung auszuschließen. Der Aufbau der Zelle mit den Gasleitungen ist aus der Abbildung 5 zu ersehen.

b) Brenndüse

Zu Beginn meiner Versuche benutzte ich eine Brenndüse, die durch ein Quarzrohr elektrisch von den übrigen Teilen der Zelle isoliert war und als positive Elektrode diente. Die Gasdichtigkeit der Übergangsstellen von Kupfer- auf Quarzrohr wurde mit Stahl-Verschraubungen hergestellt, die eine Teflonpackung enthielten. Diese Bauart genügte bei mäßigen, nicht aber bei hohen Temperaturen, weil es schwer war, den ganzen Brennerkopf hinreichend heiß zu halten und weil wegen der

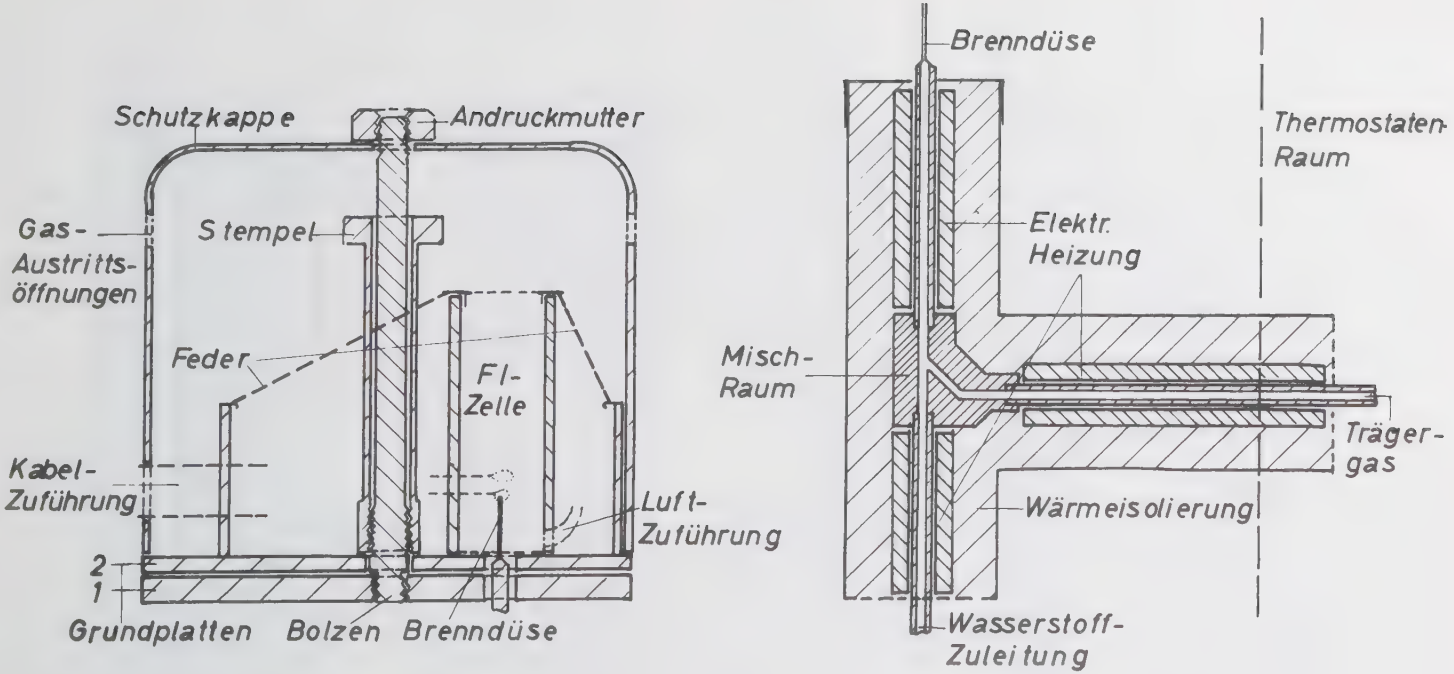

Abbildung 5 Flammen-Ionisations-Zelle - Aufbau und Gasleitungen

verschiedenen Wärmeausdehnungen der Materialien Undichtigkeiten eintraten. Die Packung mußte deshalb häufig nachgezogen oder erneuert werden. Nachdem eine andere Elektrodenanordnung gefunden war, bei der die Düse selbst spannungsfrei blieb, konnte sie metallisch leitend an den Mischraum gesetzt werden. Dadurch vereinfachte sich der Aufbau der Zelle wesentlich, und auch das Aufheizen der Gasführungen bis zur Düse konnte ohne großen Aufwand erreicht werden. Die Düse selbst bestand aus einem V2A-Rohr von etwa 15 mm Länge und 0.6 mm lichter Weite, das von der Kanüle einer Serumspritze stammte. Sie wurde auf das Ende des Kupferrohres hart aufgelötet.

c) Brennkammer

Die Brennkammer wurde aus Glas gefertigt, um die Einstellung der Elektroden und die Flamme überwachen zu können. Die erste Ausführung bestand aus einem Glaszylinder von 15 cm Höhe und 3.5 cm lichter Weite, der mit drei seitlichen Stutzen versehen war. Zwei Stutzen dienten der Halterung der Elektroden, der dritte war für das Zünden der Flamme vorgesehen.

Mit dieser Anordnung wurden verschiedene Elektrodenformen erprobt. Nachdem die optimalen Bedingungen gefunden waren, wurde eine endgültige Zelle erstellt, die kleinere Abmessungen und eine feste Anordnung der Elektroden besaß.

Die Zelle ist auf der Abbildung 5 im Schnitt dargestellt. Die Messing-Grundplatte 1 ist mit Hilfe einer nicht gezeichneten Klammer an der Halterung des Thermostaten befestigt. In die Mitte der runden Grundplatte ist ein Bolzen geschraubt. Auf diesen Bolzen kann eine zweite Grundplatte gesteckt werden, welche sowohl die eigentliche Flammen-Ionisationszelle als auch die erforderlichen elektrischen Zuleitungen und die Luftzufuhr trägt. Löst man die Andruckmutter, so kann man die Schutzkappe nach oben abziehen, und die Flammen-Ionisationszelle ist gut zugänglich. Entfernt man nur noch den Stempel, so läßt sich auch die Grundplatte 2 mit der Zelle und den elektrischen Anschlüssen nach oben abziehen, und man hat freien Zugang zu der Brenndüse, die durch ein Loch in der Grundplatte geführt ist.

d) Meßelektroden

Für das Messen des Ionenstromes sind zwei Elektroden notwendig. In der Zelle von McWilliam sowie in allen mir bekannten späteren Zellformen bildet die Brenndüse gleichzeitig die positive Elektrode. Diese wird von dem übrigen Gerät im allgemeinen elektrisch isoliert befestigt.

Anfänglich habe ich auch mit dieser Anordnung gearbeitet und vor allem verschiedene Elektrodentypen auf ihre Brauchbarkeit untersucht. Die Abbildung 6 zeigt diese Elektroden und das Blockschaltbild der elektrischen Leitungen.

A stellt eine Scheibe aus V2A-Netz dar. B eine gleiche aber mit einem kreisrunden Loch versehene. C, D und E geben Elektroden wieder, die aus Messingblech gefertigt sind. F zeigt einen Ring aus Platin- oder Nickel-Draht. Die Empfindlichkeit der Anzeige war weitgehend unabhängig von der Form. Dies beweist, daß die Elektrodenfläche hierauf keinen ausschlaggebenden Einfluß hat. Dagegen unterscheiden sich die Formen, wie die Tabelle 1 zeigt, wesentlich bezüglich der Größe der Schwankungen des Nullstromes.

Tabelle 1

Elektrodentyp	Stärke des Nullstromes	Schwankungen des Nullstromes
A	hoch	hoch
B	mäßig	hoch
C	hoch	mäßig
D	mäßig	hoch
E	mäßig	hoch
F	gering	mäßig

Der Nullstrom ist bei den Elektroden am größten, die wegen ihrer Anordnung über der Flamme heiß werden oder sogar ins Glühen kommen. Die Schwankungen des Nullstromes nehmen mit der Größe der Elektrode zu, werden aber auch von ihrer Form beeinflußt.

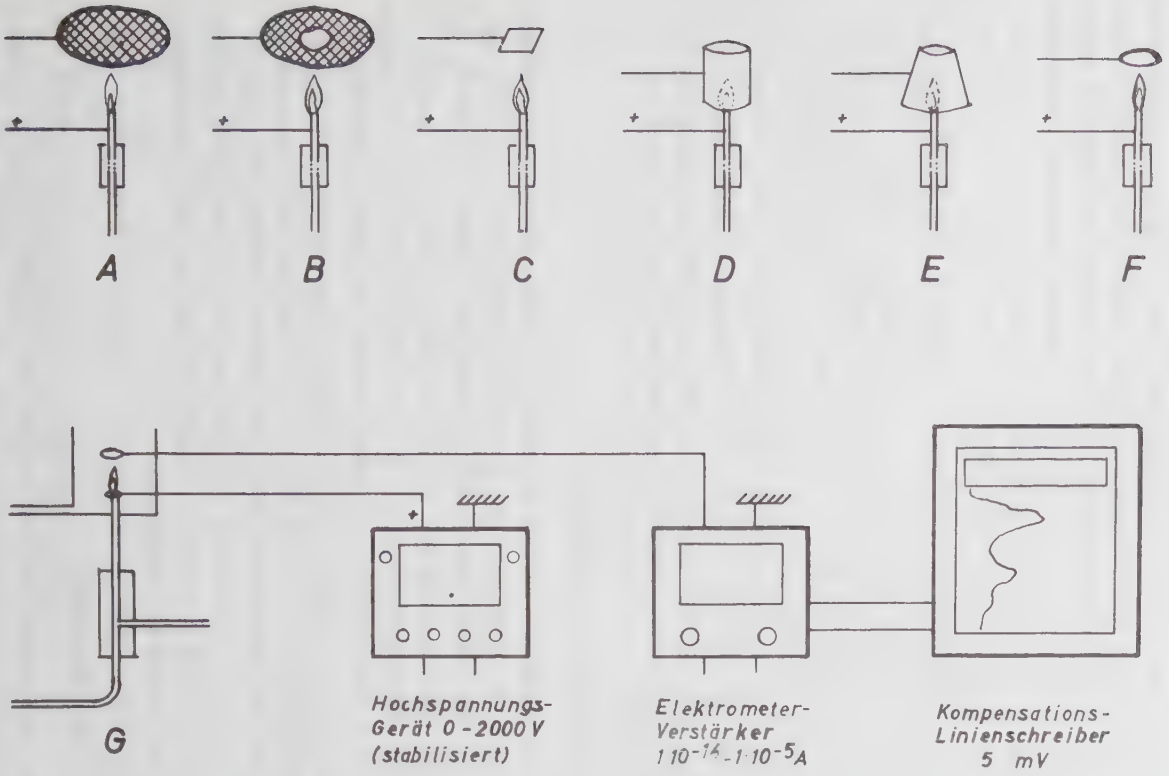

Abbildung 6 Flammen-Ionisations-Elektrodenformen und Blockschaltbild

Insgesamt ist der einfache, oberhalb der Flamme angeordnete Ring die beste Form. Er soll so weit sein, daß er von den aus der Flammenachse strömenden heißesten Abgasen nicht berührt wird. Die optimale Höhe über dem Ende der Brenndüse beträgt etwa 3 bis 4 mm. Mäßige Vergrößerungen des Abstandes beeinflussen die Anzeige nur wenig. Dagegen geht die Empfindlichkeit bei Annäherung an die positive Elektrode schnell zurück.

Alle Anordnungen nach A bis F befriedigten, wie schon erwähnt, deshalb nicht, weil die elektrische Isolierung der Brenndüse durch ein Quarzrohr Schwierigkeiten bereitete. So wurde nun versucht, die positive Elektrode von der Düse zu trennen, so daß sie als frei stehender Ring das Düsenende umgab. So ergab sich die Anordnung nach G, die nicht nur den Bau vereinfachte, sondern sich auch günstig auf die Ruhe der Nullinie auswirkte. Allerdings mußte dieser Ring sehr sorgfältig zentriert, ganz knapp um den unteren Saum der Flamme gelegt werden, um die optimale Empfindlichkeit zu erreichen.

4. Elektronischer Verstärker

Für das Messen von kleinen Strömen sind Zerhackerverstärker, Elektrometerverstärker und Schwingkondensatorverstärker geeignet. Für den vorliegenden Zweck genügte ein Elektrometerverstärker einfacher Bauart mit Einstellzeiten bis zu 1/2 sec. Benutzt wurde ein handelsübliches Pikoamperemeter (Typ P24 der Firma Knick, Berlin), das eine Nullpunktsunterdrückung und einen Anschluß für einen 5 mV Kompensations-Schreiber erhielt. Dieser Verstärker bewährte sich gut. Die Nachteile dieser einfachen Bauart, die verhältnismäßig langsame Einstellung nach dem Umschalten in den empfindlichsten Bereichen von 10^{-12} bis 10^{-11}A sowie die auf etwa das Doppelte des jeweiligen Meßbereiches begrenzte Linearität, machten sich bei den durchgeführten Analysen nur selten bemerkbar.

5. Hochspannungsgerät

Um die Abhängigkeit der Anzeige von der Elektrodenspannung messen zu können, war ein stabilisiertes Hochspannungsgerät nötig, das einstellbare Spannungen von 0 bis 2000 V liefern sollte.

Da handelsübliche Geräte nur mit langen Lieferzeiten beschafft werden konnten, habe ich selbst ein Hochspannungsgerät gebaut, das mit Glimmröhren und Kondensatoren stabilisiert war. Änderungen der Netzspannung um 10 % wirkten auf die Hochspannung bei 1000 V mit einem Betrag von weniger als 0.1 %. Die Spannung war, wie gewünscht, stufenlos einstellbar und konnte mit einem hochwertigen Instrument gemessen werden. Das Gerät war für so große Belastungen ausgelegt, daß der Verbrauch durch die Flammen-Ionisationszelle dagegen verschwindend gering blieb.

6. Empfindlichkeit der Anzeige in Abhängigkeit von der Zellspannung

Nach der Wirkungsweise der Flammen-Ionisationszelle ist zu erwarten, daß die Anzeige-Empfindlichkeit mit steigender Zellspannung ansteigt und in einen Sättigungswert einläuft, bei dem praktisch alle gebildeten Ionen, soweit sie nicht auf dem Wege rekombinieren, zur Elektrode gelangen. Der Verlauf der Strom-Spannungskurve muß von der Konstruktion

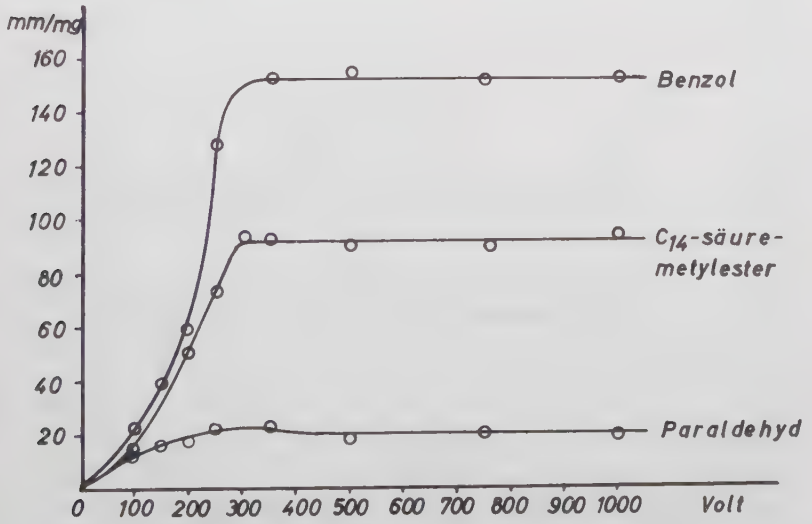

Abbildung 7 Spitzenhöhe (mm/mg) in Abhängigkeit von der Zellspannung

der Zelle, der Art der Substanz und vom Elektrodenabstand abhängig sein. Um die Sättigungsspannung für die endgültige Versuchsanordnung zu finden, wurde die Spitzenhöhe des geschriebenen Diagrammes, bezogen auf die eingesetzten Stoffmengen für mehrere Substanzen in Abhängigkeit von der angelegten Spannung bestimmt. Dabei ergaben sich die durch die Abbildung 7 dargestellten Beziehungen. In jedem der drei Fälle ist der Sättigungswert bei etwa 300 V Zellspannung voll erreicht, so daß normalerweise eine Spannung von 300 bis 350 V die maximale Anzeigeempfindlichkeit gibt. Aus der Abbildung ersieht man weiter, daß der Verlauf der Kurven stark von der Art der Stoffe abhängt. Daraus ergab sich die Frage, wie sich diese Abhängigkeit bei den Fettsäuremethylestern, die bevorzugt zu analysieren waren,

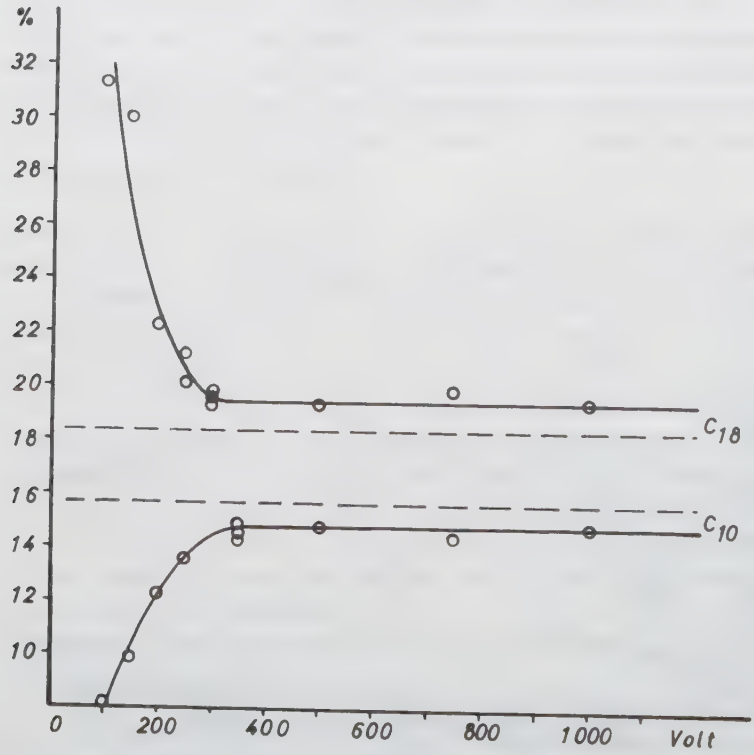

Abbildung 8 Aus den Flächenanteilen ermittelte Gewichtsprozente in Abhängigkeit von der Zellspannung

auswirken würde. Ein Gemisch aus bestimmten Mengen von Caprin-, Laurin-, Myristin-, Palmitin- und Stearin-säure-methylester wurde gaschromatographisch bei verschiedenen Zellspannungen analysiert. Die Flächen der einzelnen Spitzen wurden als Prozente der Gesamtfläche ausgedrückt. Für die Kettenlängen C_{10} und C_{18} sind die Ergebnisse auf der Abbildung 8 dargestellt.

Man sieht, daß die Sättigungsspannung für die beiden Stoffe erwartungsgemäß gleich ist. Oberhalb dieser Spannung erscheint für das niedriger molekulare Glied der gefundene Gehalt etwas kleiner als der tatsächliche (gestrichelte Linie). Umgekehrt wird der Gehalt an Stearinsäure etwas zu hoch gefunden. Viel größer werden diese Fehler aber, wenn man die Sättigungsspannung unterschreitet. Dieser Spannungsbereich ist also für Analysen dieser Art unbrauchbar.

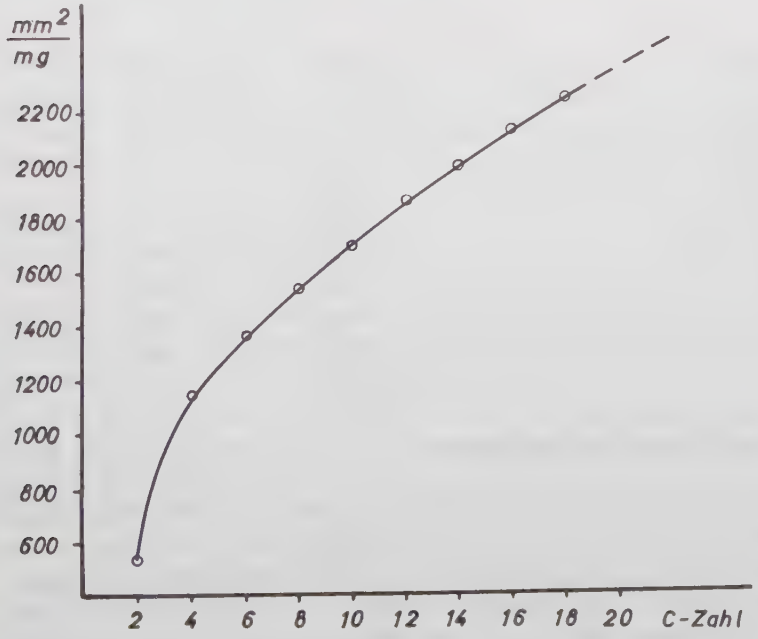

Abbildung 9 Empfindlichkeit der Anzeige (mm^2/mg) in Abhängigkeit von der C-Zahl der Fettsäuren in den Methylestern

Die Anzeigeempfindlichkeit für Fettsäuremethylester verschiedenen Molekulargewichtes wurde nun bei 350 V, also bei einer Spannung, die sicher oberhalb der Sättigung lag, gemessen und als Quotient der Zackenfläche und der Einwaage ausgedrückt. Die erhaltenen Werte steigen, wie die Abbildung 9 darstellt, mit der C-Zahl an. Diese Feststellung stimmt mit der bereits bekannten Tatsache überein, daß die Empfindlichkeit der Anzeige mit dem Kohlenstoffgehalt der Substanz wächst. Diese Abhängigkeit zeigt sich auch in der folgenden Tabelle, die ich auf Grund von gelegentlichen Messungen mit anderen Stoffen aufgestellt habe. Allerdings läßt sich auch erkennen, daß konstitutionelle Einflüsse mitwirken.

Tabelle 2

Stoff	% C	mm^2/mg
Dioxan	54	498
Adipinsäuremethylester	55	512
Paraldehyd	54	670
Furan	70	930
Thiophen	57	1180
Benzol	92	2350
Heptan	84	2420
Toluol	91	2450

7. Proportionalität der Anzeige

Um die Proportionalität der Anzeige im Bereich von 0.01 bis 5 mg Substanz zu prüfen, habe ich ein bestimmtes Gemisch von zwei Methylestern homologer Fettsäuren in verschiedenen Mengen eingewogen und analysiert. Das Gemisch enthielt 2.75 % C_{10}-methylester und 97.25 % C_{12}-methylester, d.h. das Verhältnis der zwei Ester zueinander unterschied sich um mehr als eine Zehnerpotenz. Die Einwaagen brauchten sich also nur im Bereich einer Zehnerpotenz zu bewegen,

um insgesamt zwei Zehnerpotenzen in den eingesetzten Substanzmengen zu erfassen. Die Abbildung 10 zeigt die erhaltenen Werte.

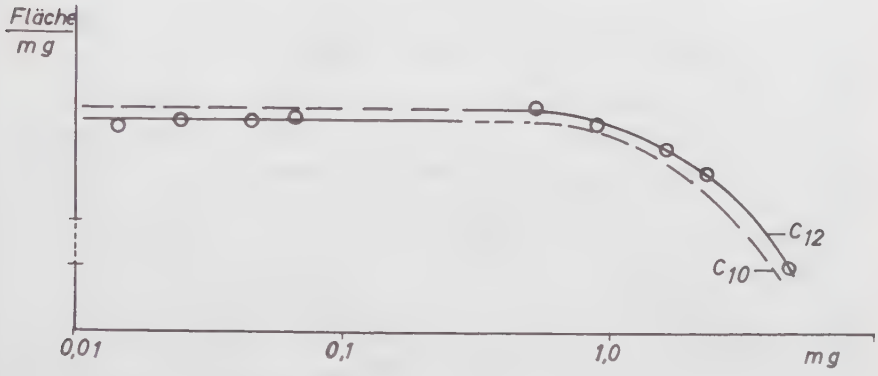

Abbildung 10 Proportionalität der Anzeige

Die Kurven für C_{10}- und C_{12}-methylester decken sich nicht, da die Anzeigeempfindlichkeiten für kohlenstoffreichere Glieder höher liegen. Es kann aber vorausgesetzt werden, daß die Kurven parallel verlaufen.

Eine Proportionalität der Anzeige ist demnach im Bereich von 0.01 bis 0.5 mg hinreichend gegeben.

Übersteigt das Gewicht einer Komponente 1 mg, so erfolgt für diese ein merklicher Abfall der Anzeigeempfindlichkeit. Beim praktischen Arbeiten sollte man daher möglichst die Menge von 0.5 mg Einzelsubstanz nicht überschreiten. Da für diese Grenze die Konzentration in der Flamme maßgebend ist, gilt die Gewichtsangabe nur für Fettsäuremethylester, die mit der gleichen Spitzenschärfe wie C_{10}- und C_{12}-methylester aus der Säule austreten. Bei schärferen Spitzen liegt, wegen der größeren Konzentration in der Flamme, das Maximum der proportionalen Anzeige niedriger, bei breiteren Spitzen höher.

Man darf bei dieser Feststellung auch nicht vergessen, daß die flüchtigen Anteile der stationären Phase die Stärke des Ionenstromes mit beeinflussen. Durch Kolonnen, die viel Dampf abgeben, kann die

Proportionalitätsgrenze für die zu messende Substanz eingeengt werden. Umgekehrt werden sehr saubere Säulen die Proportionalitätsgrenze anheben.

8. Beurteilung der Flammen-Ionisationszelle

Flammen-Ionisationsdetektoren gestatten hochempfindliche Messungen. Die Nachweisgrenze ist durch die Höhe und die Unregelmäßigkeiten des Grundstromes gegeben. Werden der Flamme nur Wasserstoff und Stickstoff zugeführt, so ist der Nullstrom kleiner als 1×10^{-12}A. Um Ausschläge im Bereich von 10^{-12}A messen zu können, müssen allerdings die Trennsäulen und die Leitungen bis zur Brenndüse extrem sauber sein, d.h. sie dürfen nur sehr wenig organische Substanz an den Gasstrom abgeben. Auch die der Zelle zugeführte Verbrennungsluft muß filtriert werden, um Staub- oder Nebelteilchen auszuschließen, die scharfe, kurze Impulse geben, wenn sie in die Flamme gelangen.

Bei Arbeitstemperaturen von 200°C und darüber haben unpolare Kolonnen, die mit Apiezon- oder Silikonfett gefüllt sind (s.S. 66) Nullströme von 0.5 bis 2×10^{-10}A. Das heißt, daß man mit geringer Dämpfung des Verstärkers Stromänderungen in der Flamme von 1×10^{-11}A noch messen kann. Myristinsäuremethylester beispielsweise, läßt sich bei dieser Empfindlichkeit noch in einer Menge von 0.1 Gamma nachweisen.

Polare Kolonnen mit Polyesterfüllungen (s.S. 69) geben mehr Substanz aus der stationären Phase ab. Der Nullstrom beträgt bei 200°C je nach Art und Alter der Polyester etwa 5×10^{-9} bis 2×10^{-8}A. Die maximale Empfindlichkeit ist in diesem Falle nicht über 1×10^{-10}A zu steigern, weil die Unruhe des Nullstromes in kleineren Meßbereichen zu groß ist. Die Nachweisgrenze für Fettsäuremethylester liegt in diesem Falle bei etwa 1 Gamma.

Diese ungefähren Grenzen sind mit Kolonnen ermittelt, die etwa 2000 Trennstufen äquivalent waren und bei 200°C betrieben wurden. Mit trennschärferen Säulen und bei tieferen Temperaturen lassen sich noch beträchtlich kleinere Mengen von Substanzen nachweisen. Es konnte beispielsweise in Benzol bei 100°C ein Nebenbestandteil gefunden

werden, der in einer Konzentration von 1/1000 % vorlag.

Die meisten analytischen Aufgaben lassen sich lösen, ohne die Empfindlichkeit bis ins letzte auszunutzen. Hat man genügend Substanzgemisch zur Verfügung, etwa 0.1 bis 1 mg, so kann man in einem Meßbereich von beispielsweise 10^{-8}A arbeiten. Der Nullstrom wird in diesen Fällen weit unterhalb der angezeigten Ströme liegen und die Grundlinien der Diagramme sind dann hervorragend stabil.

Der Grundstrom ist von der Temperatur des Thermostaten nicht unmittelbar abhängig, sondern nur in dem Maße, wie sich die Abgabe von Dämpfen aus der stationären Phase mit der Temperatur ändert. Diese weitgehende Unabhängigkeit der Anzeige von kleinen Anderungen der Strömungsgeschwindigkeit des Gases und der Temperatur des Thermostaten unterscheiden die Flammen-Ionisationszelle vorteilhaft von der Wärmeleitzelle.

Mit sauberen Kolonnen betrieben, bietet die Flammen-Ionisationszelle die, getrennt beheizt, sich außerhalb des Thermostaten befindet, eine ideale Anzeigevorrichtung für Analysen mit stetig steigenden oder nach einem Programm gewechselten Thermostatentemperaturen.

Durch das Verwenden zweier, an kalten Stellen isoliert angebrachter Elektroden ist nicht nur der Bau der Zelle erleichtert, sondern auch die Möglichkeit gegeben, bei Temperaturen zu arbeiten, die nur durch die thermische Stabilität der Substanzen bestimmt sind. Normalerweise wird die Zuleitung zur Flammen-Ionisationszelle etwa 50 bis 100° über der Thermostatentemperatur gehalten.

Die hier beschriebene Flammen-Ionisationszelle ist seit einem Jahr fast ununterbrochen im Betrieb und hat sich in ihrer endgültigen Form sehr gut bewährt.

E Ionen-Umlenkungs-Detektor

1. Allgemeines

In der von mir benutzten Flammen-Ionisationszelle werden zwei Elektroden benutzt, die sich als Ringe unterhalb des Flammensaumes bzw. oberhalb der Flammenspitze befinden. Die untere Elektrode wird auf einem Potential gehalten, das etwa 300 V positiv gegenüber der oberen ist. Die obere Elektrode wird mit dem Eingang des Verstärkers verbunden.

In orientierenden Versuchen mit dieser Zelle zeigte es sich, daß der Nullstrom um 1 bis 2 Zehnerpotenzen sinkt, wenn man bei gleicher Zellspannung die Polung umkehrt.

Mit Propangas als Analysensubstanz wurden mit dieser Anordnung Ausschläge erhalten, die zwar kleiner waren als die, welche man mit der normalen Polung erhält, jedoch größer, als man es aus der Abnahme des Nullstromes hätte erwarten sollen. Daraufhin führte ich eine Versuchsreihe mit gleichen eingesetzten Mengen Propan, jedoch wechselnden Elektrodenspannungen durch. Es ergab sich, daß die Empfindlichkeit der Anzeige mit steigenden Spannungen ein Maximum durchläuft. Die gleiche Serie mit Methan aufgenommen zeigte gleichfalls ein Maximum, jedoch bei einer anderen Spannung.

Da der Aufbau der Geräte, der Trennsäulen und das Durchführen von gaschromatischen Analysen meine Zeit voll in Anspruch nahm, wurden Messungen mit der umgekehrten Elektrodenanordnung erst in den letzten Monaten wieder aufgenommen, nachdem fast ein Jahr seit den ersten Versuchen vergangen war. Es ergaben sich einige bemerkenswerte Effekte, die für bestimmte Probleme nützlich sein können und die im folgenden beschrieben werden sollen.

2. Wirkungsweise der Zelle

Bei der normalen Anordnung der Elektroden gelangen die in der Flamme gebildeten positiv geladenen Teilchen in leicht gekrümmten Bahnen zur negativen Elektrode, die sich oberhalb der Flamme befindet. Legt man eine genügend hohe Spannung an, so kommen praktisch alle positiven Ionen, soweit sie nicht vorher wieder Elektronen einfangen, zur Elektrode. Kehrt man die Ringanordnung um, dann müssen die positiven Ionen, die einen Geschwindigkeitsvektor in der Richtung der aus der Brenndüse tretenden Gase haben, ihre Richtung um annähernd 180° ändern, um an die negative Elektrode zu gelangen. Bei kleinen anliegenden positiven Spannungen wird die wirkende elektrische Abstoßung der oberen Elektrode nicht ausreichen, um Teilchen mit großer Masse und kleiner Ladung auf die negative Elektrode zurückzuschleudern. Diese Ionen werden durch die Öffnung der oberen Elektrode fliegen und nicht gemessen werden. Bei Erhöhen der Spannung wird die Zahl der zurückgeworfenen Ionen anwachsen und ein Maximum erreichen. Wird die Spannung darüber hinaus erhöht, so wird der Impuls von der positiven Elektrode möglicherweise so groß werden, daß die Ionen die negative Meßelektrode nicht mehr erreichen; der gemessene Strom wird wieder absinken. Würde in der Flamme aus einem einheitlichen organischen Stoff nur eine ganz bestimmte Ionenart, in bezug auf Masse und Ladung, entstehen, so sollte man auch ein relativ scharfes Maximum erwarten. Für zwei stark verschiedene Ionenarten werden die Maxima wahrscheinlich bei verschiedenen Spannungswerten liegen.

Die mit mehreren Substanzen durchgeführten Messungen zeigten die erwarteten Maxima, allerdings nicht scharfe, sondern breit auslaufende. Jedoch unterschieden sich die Lagen dieser Maxima je nach den eingesetzten Stoffen zum Teil sehr stark. So gelang es zum Beispiel bei bestimmten Spannungen die Anzeige der einen Substanz gegenüber der zweiten so stark zu unterdrücken, daß sie bei der benutzten Empfindlichkeit nicht mehr angezeigt wurde.

3. Proportionalität der Anzeige

Gaschromatogramme, die mit dieser umgekehrten Polung aufgenommen wurden, zeigten engere und schärfer voneinander abgesetzte Spitzen

als mit der normalen Anordnung. Dies deutete darauf hin, daß die Anzeige nicht proportional der Menge ist und daß kleine Substanzmengen unempfindlicher angezeigt werden. Eine Versuchsreihe mit wechselnden Einwaagen und konstanter Zellspannung aufgenommen, konnte diese Annahme bestätigen; die Abbildung 11 gibt dies wieder. Anders als bei normaler Polung sind es hier gerade die größeren Mengen, die etwa proportional der Menge angezeigt werden.

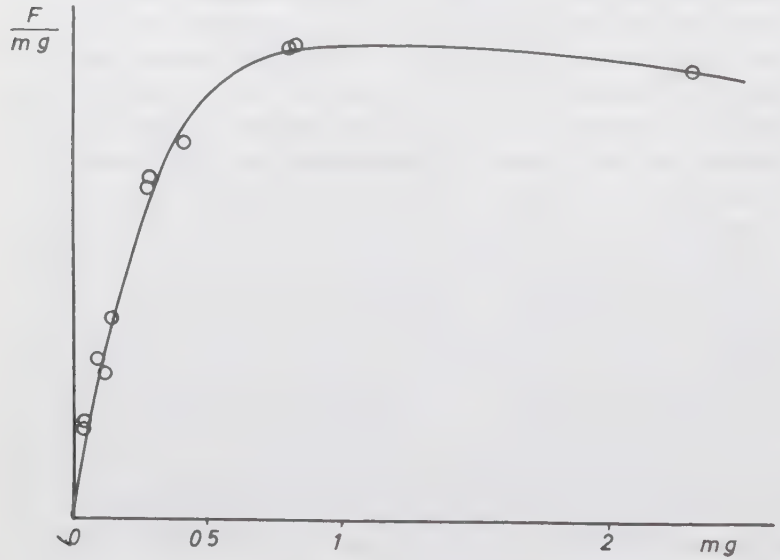

Abbildung 11 Anzeigeempfindlichkeit für Fettsäuremethylester (F/mg) in Abhängigkeit von der Menge bei umgekehrter Polung (200 V)

4. Abhängigkeit der Anzeige von der Zellspannung

Wie schon gesagt, durchlaufen die Anzeigeempfindlichkeiten ein Maximum, wenn man die Zellspannung anwachsen läßt. Die Abbildung 12 zeigt dieses Verhalten deutlich für Benzol und Paraldehyd.

Das Anzeigemaximum liegt für Paraldehyd bei etwa 90 Volt, für Benzol bei 320 Volt. Das heißt, daß bei Erreichen des Maximums für Benzol der Paraldehyd praktisch überhaupt nicht mehr angezeigt wird. Für Laurin-

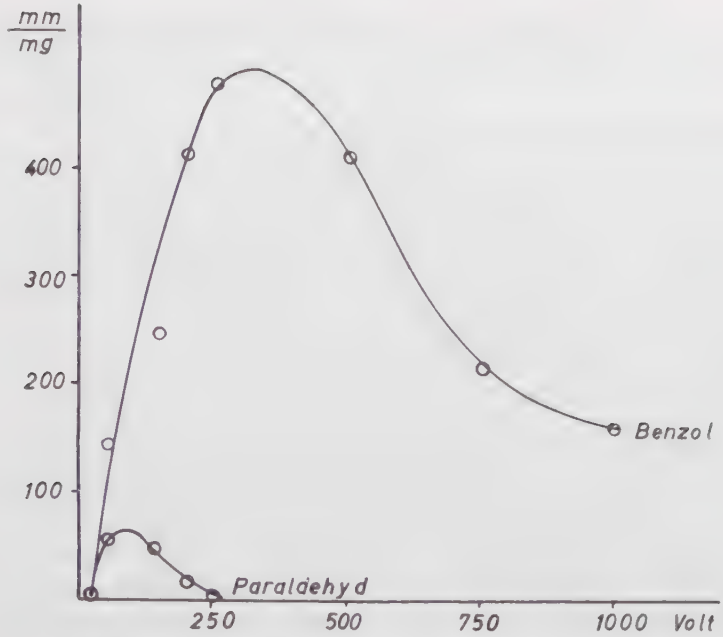

Abbildung 12 Anzeigeempfindlichkeit (mm/mg) in Abhängigkeit von der Zellspannung bei umgekehrter Polung

säuremethylester liegt das Maximum bei etwa 200 V. In der homologen Reihe der Fettsäureester ist die Verschiebung des Maximums aber so gering, daß man aus ihr keinen Nutzen für Analysen ziehen kann.

Auch die aus polaren Säulen austretenden Dämpfe der stationären Phase, die den relativ hohen Nullstrom verursachen, besitzen ein Anzeigemaximum. So wurde mit einer Diglykol-Succinat-Kolonne ein Maximum des Nullstromes von 2×10^{-10}A bei 75 V gemessen.

Wurde die Spannung auf 200 V gesteigert, den optimalen Wert zur Anzeige von Fettsäuremethylestern, so fiel der Nullstrom auf 5×10^{-11}A. Bei normaler Polung wurde mit derselben Kolonne ein Nullstrom von 1×10^{-9}A, also ein wesentlich größerer gefunden. Da sich andererseits das Umkehren der Polung nicht stark auf die Empfindlichkeit der Anzeige auswirkt, Faktor 0.5 bis 0.7, wenn Fett-

säuremethylester in Mengen um 1 mg eingesetzt werden, ergeben sich durch die Umkehr kräftige Zacken aus einer sehr stabilen Null-Linie.

5. Anwendungsmöglichkeiten für die Zelle

Mit der Umlenkungs-Zelle ist es in günstigen Fällen möglich, die Anzeigeempfindlichkeit für die einzelnen Komponenten eines Gemisches zu beeinflussen, wenn sich die Stoffe chemisch stark unterscheiden. Man könnte versuchen, dieses Verfahren so auszubauen, daß es für das Identifizieren von unbekannten chemischen Individuen in einem Gaschromatogramm dient. Jedoch würde die Mühe für das Beschaffen der Unterlagen recht groß sein.

Dagegen könnte es bei Routineanalysen z.B. in der Betriebskontrolle manchmal wichtig sein, eine Komponente besonders herauszuheben, vor allem dann, wenn gleichzeitig Anlagen nach dem Analysenergebnis geschaltet oder gesteuert werden sollen. Dabei ist eventuell gerade die mangelnde Proportionalität von Nutzen. Nach der Abbildung 11 würde man Änderungen in der Konzentration der ausgetragenen Substanz besonders empfindlich erkennen können, wenn sie im Gebiet des Kurvenanstiegs auftreten, weil sich die Spitzenhöhe mit der Konzentration stark ändert. Auch die erhöhte Grundlinienstabilität ist gerade für Schaltzwecke von entscheidender Bedeutung.

F Gaschromatograph mit ß-Strahlen-Ionisationszelle

1. Allgemeines

ß-Strahlen besitzen die Fähigkeit, Moleküle zu ionisieren. Die gebildeten Ionen können durch Messen eines Ionenstromes nachgewiesen werden. Die Stärke des Stromes hängt von der Bauart der Zelle, der Intensität der Strahlung und der Menge sowie der Art der Substanz ab. Die Messung durch ß-Strahlen-Ionisation eignet sich daher für die Analyse von Gasen und wird dafür schon länger benutzt. Relativ jung ist dagegen der Argon-ß-Strahlen-Detektor, der von Lovelock 2) speziell für die Gaschromatographie entwickelt wurde. Dies Gerät zeichnet sich durch hohe Anzeige-Empfindlichkeit für organische Substanzen aus. Es ist dabei relativ stabil gegen Änderungen der Temperatur und der Strömungsgeschwindigkeit des Gases.

Die Wirkungsweise dieses Detektors beruht darauf, daß Edelgase wie Argon, das leicht in reiner Form erhalten werden kann, von ß-Strahlen sowohl ionisiert als auch angeregt werden. Die Lebensdauer der metastabilen angeregten Atome liegt in der gleichen Größenordnung wie die der Ionen. Befindet sich in der Meßzelle ein Spannungsgefälle von 500 bis 2000 V, so werden die durch Ionisation gebildeten Elektronen entsprechend der anliegenden Spannung so beschleunigt, daß sie weitere Argon-Atome anregen. Dadurch überwiegt die Zahl der angeregten Atome die der ionisierten beträchtlich. Da die Anregungsenergie des Argons von 11.6 eV größer ist als die Ionisierungs-Energie der meisten organischen Moleküle, so wird, falls organische Substanz in die Zelle gelangt, bei Zusammenstößen die Anregungsenergie des Argons auf diese Moleküle übertragen, die dabei ionisiert werden.

Die entstandenen Argon-Ionen bilden den Grundstrom, der bei Anwesenheit von org. Substanz um mehrere Zehnerpotenzen anwachsen kann. Der Strom, der bei den benutzten Substanzmengen von 0.001 bis 0.5 mg in der Größenordnung von 10^{-9}A liegt, wird verstärkt und von einem Linienschreiber registriert.

Gaschromatographen mit Argon-ß-Strahlen-Detektoren sind bereits handelsüblich und werden seit einiger Zeit von der Firma Pye, Cambridge,

England gebaut. Ein Gerät dieser Art war dem Institut freundlicherweise von der deutschen Vertretung für einige Wochen zur Verfügung gestellt worden. Auf Grund von Versuchen, die damit durchgeführt wurden, erschien es für den gedachten Verwendungszweck am besten, die Ionisationszelle und die Hochspannungs- und Verstärker-Einheit fertig zu übernehmen, andere wesentliche Teile aber nach eigenen Wünschen zu gestalten. Dies betraf vor allem den Thermostaten, der dieselben haarnadelförmigen Säulen aufnehmen sollte, die in den oben beschriebenen Gaschromatographen passen.

2. Strömungsschema des Trägergases und Blockschaltbild

Das Strömungsschema des Trägergases und das Blockschaltbild sind in der Abbildung 13 wiedergegeben.

Das aus der Vorratsflasche entnommene Gas wird auf den passenden Anfangsdruck reduziert. Durch ein Hahnsystem strömt das Gas über die Einspeisvorrichtung zur Trennsäule im Thermostaten und weiter durch die ß-Strahlen-Ionisationszelle. Mit einem Seifenblasen-Flußmesser kann die Strömungsgeschwindigkeit des Gases am Kolonne-Ausgang gemessen werden. Mit Hilfe der Gas-Rückspülhähne wird das Eindringen von Luft in die Trennsäule während des Einspeisens von Analysensubstanz vermieden. Die Hähne sind wie in der Apparatur mit Flammen-Ionisationszelle angeordnet (s.S. 20).

Als Trägergas ist Schweiß-Argon geeignet, das in genügender Reinheit von 99.95-proz. geliefert wird.

3. Thermostat mit Heizung und Temperaturregelung

Der Thermostatenraum wird von einem 5 mm starken Kupferrohr gebildet, das eine lichte Weite von 80 cm und eine Länge von 1000 mm besitzt. Dieses Rohr steht senkrecht, der Boden ist hart verlötet. Auf den Mantel des Rohres ist, isoliert durch eine dünne Glimmerschicht, ein Heizdraht gewickelt und zwar in vier Abschnitten. Dabei sind die Widerstände des unteren und oberen Abschnittes etwas größer als die der mittleren gewählt. Bei Anlegen einer Spannung von 240 V wird eine Leistung von etwa 500 Watt erreicht. Zur Wärmeisolierung ist

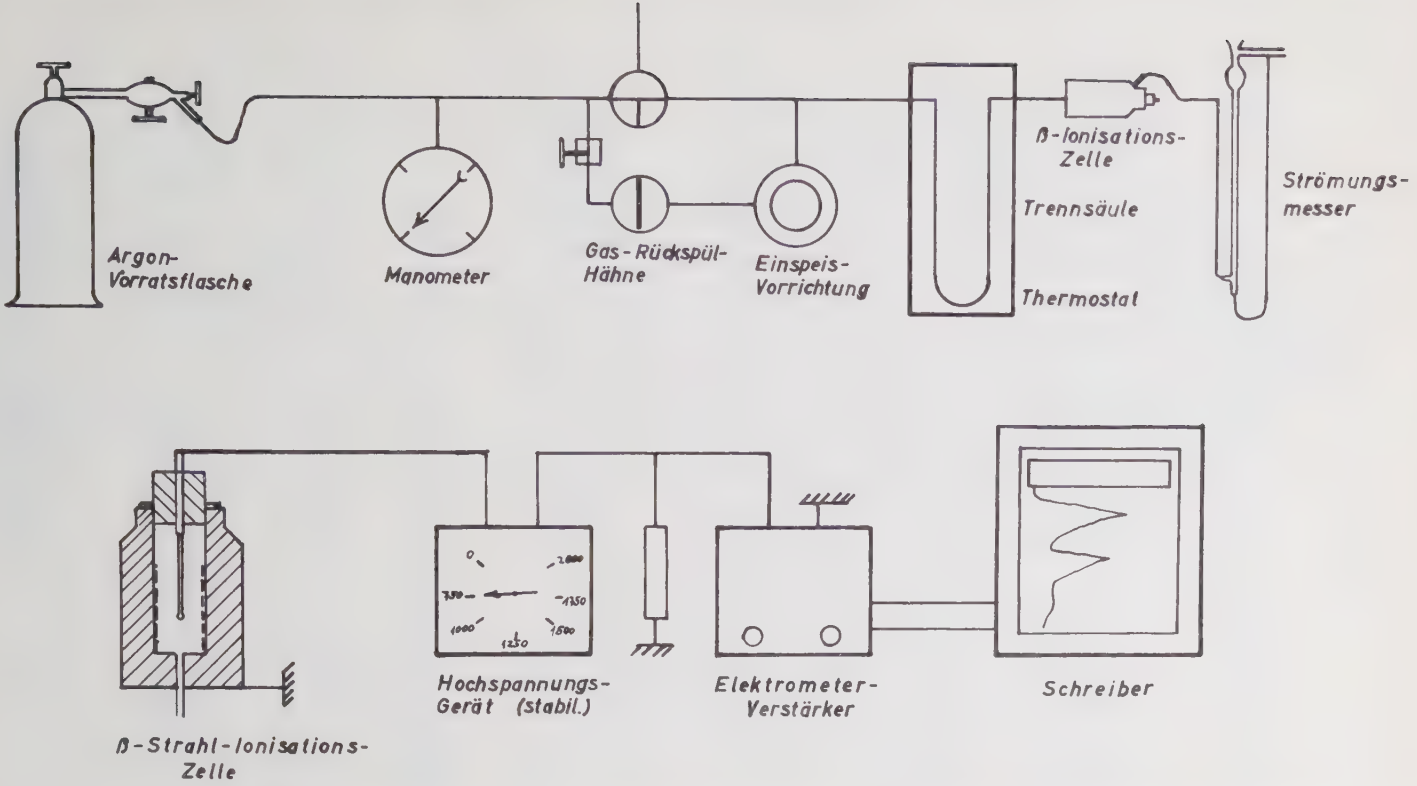

Abbildung 13 Gaschromatograph mit ß-Strahlen-Ionisationszelle Strömungsschema und Blockschaltbild

außen eine Schicht von 3 cm Gesteinswolle gelegt, die von einem aufschraubbaren Mantel aus 0.75 mm starkem Aluminiumblech gehalten wird.

Das Regeln der Heizung erfolgt praktisch stufenlos mit einem Ringkern-Transformator. Ein geringes Temperaturgefälle im Thermostaten, das anfänglich vorhanden war, wurde durch Parallelschalten von Außenwiderständen zu den betreffenden Heiz-Segmenten ausgeglichen.

Um die Temperatur konstant zu halten, ist ein Kontakt-Thermometer schräg durch die Gesteinswolleschicht geführt, so daß die Quecksilberkugel des Thermometers das Kupferrohr berührt und sich zwischen zwei Windungen des Heizdrahtes befindet. Das Schalt-Thermometer wirkt über eine Kaltkathodenröhre auf ein Relais, das einen Vorwiderstand in den Heizkreis schaltet, wenn der Thermostat zu warm wird. Diese einfache Anordnung regelt die Temperatur im Thermostaten-Innenraum auf etwa $\pm$ 0.5°C, wenn sich die Zimmertemperatur nicht ungewöhnlich stark ändert.

Getrennte Heizkreise sind für die Einspeisvorrichtung und die ß-Strahlen-Ionisations-Zelle vorgesehen. Die Heizung für die ß-Zelle dient nur dazu, die Aufheizzeit dieses relativ schweren Messing-Blocks zu verkürzen. Sie wird nach Erreichen der Betriebstemperatur abgeschaltet.

4. Thermostatenkopf mit Einspeisblock und ß-Strahlen-Ionisationszelle

Als beste Anordnung der ß-Strahlen-Ionisationszelle und des Einspeisblocks erschien eine Einheit, die in das Thermostatenrohr von oben eingesetzt wird und die gleichzeitig die Kolonnen trägt.

Der Kapillaren-Zertrümmerer war nach meinen Angaben in der Werkstatt des Institutes angefertigt worden. Sein Bau geht aus der Abbildung 14 hervor, die einen Schnitt durch den Thermostatenkopf zeigt.

Drei Gewindestangen G verbinden den Kopf D und die Befestigungsplatten P1, P2 und P3. Der Einspeisblock E ist an der Platte P1

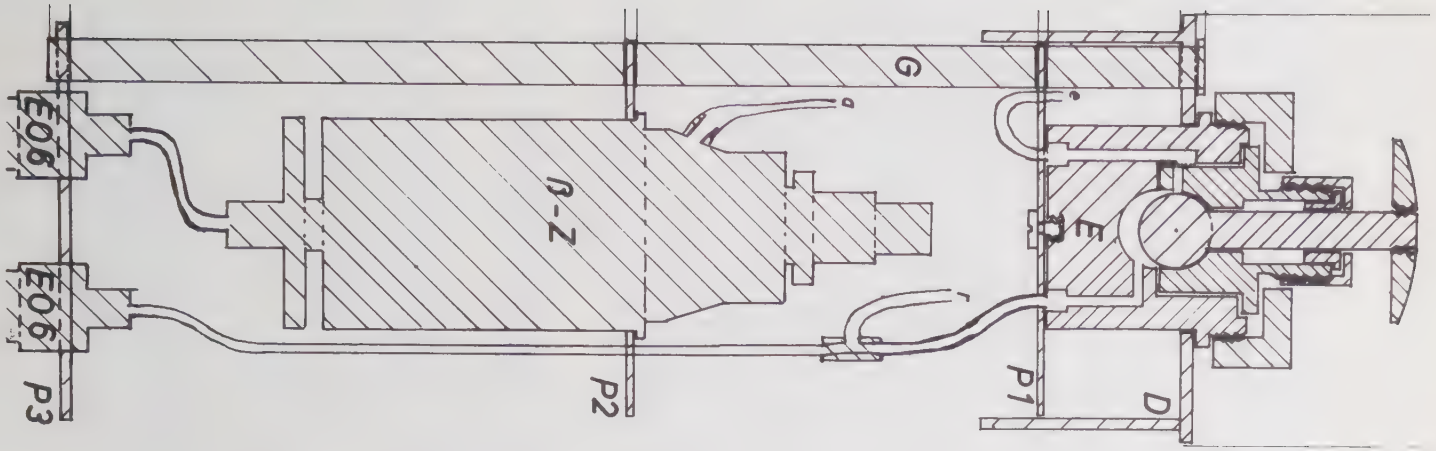

Abbildung 14 Thermostatenkopf mit Einspeisblock und ß-Strahlen-Ionisationszelle

befestigt. Die Platte P2 hält die ß-Strahlen-Ionisationszelle und die Platte P3 trägt Anschlüsse für zwei Trennsäulen in Haarnadelform, die nach Einsetzen des Kopfes senkrecht im Thermostaten hängen.

Dieser Kopf kann mit einem Griff aus dem Thermostaten gezogen werden. Die Trennsäulen sind leicht auszutauschen, und die ß-Strahlen-Zelle kann im Bedarfsfalle schnell ausgebaut und gereinigt werden. Auch der Einspeisblock ist gut zugänglich.

Nach Öffnen des Zertrümmerers, d.h. nach Abziehen des Einsatzes mit Stempel und Befestigungsmutter kann die in eine Glas-Kapillare eingeschmolzene Substanz in den Zertrümmerer gelegt werden. Hat man den Stempel wieder aufgesetzt und die Mutter angezogen, so wird die eingedrungene Luft herausgespült und die Glas-Kapillare im geeigneten Augenblick durch Herunterdrücken des Stempels zertrümmert. Der gesamte Stahlblock des Zertrümmerers kann mit einer elektrischen Heizung so hoch erhitzt werden, daß die freigesetzte Substanz momentan verdampft und mit dem Trägergasstrom zur Trennsäule transportiert wird.

Zum Abdichten des Einsatzes mit dem Stempel gegen den Einspeisblock dient ein Teflon-Ring, der nach Anziehen der Kopfmutter fest zwischen dem Einsatz und dem Block sitzt.

5. Anzeigeempfindlichkeit und Meßbreite der Argon-ß-Strahlen-Ionisationszelle

Die Anzeige von organischer Substanz im Detektor ist von der Anwesenheit angeregter Argon-Atome abhängig, deren Anregungsenergie dabei verbraucht wird. Deshalb ist eine Proportionalität der Anzeige nur so weit zu erwarten, wie die Zahl der angeregten Argon-Atome groß ist im Vergleich zu derjenigen der anzuregenden organischen Molekeln; man darf also nur beschränkte Mengen von Substanz einsetzen.

Innerhalb des Proportionalitätsbereiches kann die Empfindlichkeit der Anzeige im Temperaturgebiet von 200°C durch Umschalten der Zellspannung von 750 auf 1500 V um etwa eine Zehnerpotenz vergrößert werden. Dabei muß jedoch bemerkt werden, daß nur wenige Kolonnen es

gestatten, bei 1500 V noch zu arbeiten. Im allgemeinen liegt bei 1250 V, auch bei anfänglich sehr sauberen Kolonnen, die Grenze für eine Anzeige mit gerader Grundlinie ohne Fluktuation.

Für Palmitinsäuremethylester, der aus der benutzten unpolaren Kolonne bei 200°C nach 15 Min. austrat, wurde bei 750 V und 0.1 mg eingespeister Menge der Vollausschlag des Schreibers erreicht. Dies ist die kleinste in diesem Falle mögliche Anzeigeempfindlichkeit, die der größten auswertbaren Substanzmenge entspricht. Bei 1500 Volt betrug die kleinste nachweisbare Menge (3mm Spitzenhöhe) 1×10^{-4} mg. Daraus folgt eine Meßbreite von 3 Zehnerpotenzen als Optimalfall bei 200°C. Diese Meßbreite kann durch unsaubere Kolonnen, die durch Abgabe von Dämpfen aus der stationären Phase einen starken Nullpegel ergeben, erheblich eingeengt werden.

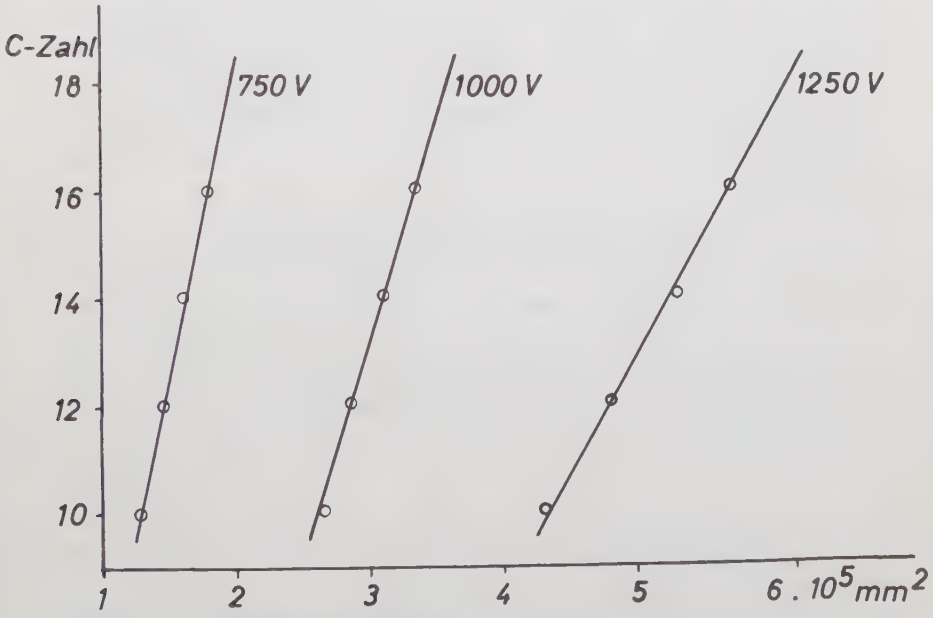

Abbildung 15 Abhängigkeit der Anzeige von der C-Zahl der Fettsäuren in den Methylestern

Die Anzeigeempfindlichkeit für homologe Glieder von Fettsäuremethylestern ist abhängig von der C-Zahl der Kette. Legt man für das Ausmessen der Spitze das Produkt aus Höhe mal Halbwertsbreite zugrunde, so ergibt sich eine mäßig wachsende Empfindlichkeit mit zunehmender Kettenlänge. Die Abbildung 15 zeigt dies für die Methylester der Caprinsäure bis zur Stearinsäure für verschiedene Zellspannungen. Die absolute Empfindlichkeit für Myristinsäuremethylester beträgt in der Ausdrucksweise nach Dimbat (s.S. 62) bei $200^{\circ}C$ $S = 10^{5}$ ml mV/mg.

6. Anwendung des Gerätes

Die Apparatur mit ß-Strahlen-Ionisationszelle zeichnet sich durch eine gute Konstanz des Nullstromes auch bei Temperaturen von über $200^{\circ}C$ aus, bei gleichzeitig großer Empfindlichkeit. Unbequem ist ihre geringe Meßbreite, erstens bei der Spurensuche und zweitens weil die unvermeidliche Abgabe von Dämpfen aus der stationären Phase außerordentlich klein sein muß. Hier liegt ein gewisser Nachteil gegenüber den in dieser Hinsicht anspruchsloseren Wärmeleitzellen vor, der jedoch durch die ausgezeichnete Stabilität auch bei höheren Temperaturen und durch die große Empfindlichkeit mehr als aufgewogen wird.

Ich betreibe diese Apparatur nur mit sehr sauberen unpolaren Kolonnen, die vor dem Einsetzen in das Gerät mehrere Tage lang mit Trägergas bei Temperaturen gespült werden, die 20 - 50° höher liegen als die später im Thermostaten angestrebten. Mit einer Apiezon-M-Kolonne läuft dieses Gerät mehrere Monate hindurch ununterbrochen bei $230^{\circ}C$ ohne Einbuße an Empfindlichkeit oder Zunahme der Inkonstanz des Nullstromes.

G Aufbau eines Gaschromatographen für präparative Trennungen

1. Allgemeines

Bei der Untersuchung von natürlichen Fetten auf ihre Feinstruktur möchte man auch Bestandteile erfassen, die in der Größenordnung von 0.001 bis 0.1 % in dem Fettsäuregemisch vorhanden sind. Nimmt man als Ausgangsmenge einige Kilogramm, die im Labormaßstab noch einigermaßen gut zu handhaben sind, so kann man die Nebenbestandteile in Mengen von einigen Milligramm bis zu einigen zehntel Gramm erwarten, wenn sie verlustlos isoliert werden.

Das Auftrennen von derart kleinen Mengen isomerer Glieder mit sehr ähnlichen physikalischen und chemischen Eigenschaften bereitet auf dem Wege der Destillation erhebliche Schwierigkeiten und führt bestenfalls zu einer starken Anreicherung. Da mit der Gaschromatographie besonders die kleinen Substanzmengen mit relativ geringem Aufwand gut getrennt werden können, liegt es nahe, dieses Verfahren auch für die präparative Trennung nutzbar zu machen. Gaschromatographie im präparativen Maßstab ist schon mehrfach beschrieben worden 13, 14, 15). Hier kam es darauf an, ein Gerät zu erstellen, das die in den Fetten normalerweise vorliegenden Säuren mit 10 bis 22 C-Atomen in Form von Fettsäuremethylestern in kurzer Zeit und mit hoher Trennleistung zu zerlegen gestattet.

Als obere Grenze der einzusetzenden Substanzmengen wurde 1 Gramm gewählt, weil man für größere Proben meist wohl vorteilhafter hochwirksame Destilliersäulen benutzen kann, und weil man mit einem für 1 g Einwaage ausgerüsteten Gaschromatographen durch Wiederholung der Trennung auch etwas größere Mengen verarbeiten kann.

Ein Gaschromatograph für präparative Zwecke unterscheidet sich von einem analytischen im wesentlichen durch die Größe der Trennsäulen, durch einen an erhöhte Stoffmengen angepaßten Detektor und durch eine Auffang-Vorrichtung für die Fraktionen.

2. Aufbau der Apparatur und Strömungsschema der Gase

Für den Aufbau der Apparatur waren folgende Gesichtspunkte bestimmend:

1. Trägergas sollte Stickstoff sein, der relativ billig und im Gegensatz zu Wasserstoff ungefährlich ist. Diese beiden Vorteile fallen mit zunehmenden Mengen mehr ins Gewicht.

2. Die Anzeige sollte entweder mit einer Wärmeleitzelle oder mit einer Anordnung erfolgen, bei der ein kleiner Bruchteil der Substanz in einen empfindlichen Ionisationsdetektor geleitet wird.

   a) Anzeige mit einer Wärmeleitzelle: Für die Wärmeleitzelle sprach, daß sie geringen mechanischen und elektrischen Aufwand erfordert. Beim Betrieb mit Stickstoff ist aber ihre Empfindlichkeit gegenüber organischer Substanz sehr gering. Außerdem kommen die Stoffe in der Wärmeleitzelle mit dem heißen Wärmefühler in Berührung und werden dabei thermisch erhöht beansprucht.

   b) Anzeige mit Ionisationsdetektoren: Ionisationsdetektoren scheinen auf den ersten Blick zur Anzeige größerer Substanzmengen wegen ihrer beschränkten Belastbarkeit weniger geeignet. Dazu kommt, daß in der Flammen-Ionisationszelle die Substanz bei der Messung zerstört wird. Wenn man aber von dem aus der Säule tretenden Gasstrom einen kleinen Teil in einen Nebenzweig leitet, so läßt sich die Analyse wegen der Empfindlichkeit der Ionisationszellen ohne beträchtlichen Substanzverlust gut durchführen, am besten mit einer Flammen-Ionisationszelle wegen ihres kleinen Eigenvolumens und ihrer relativ großen Meßbreite.

3. Die Trennsäulen sollten in einem geräumigen, mit umgewälzter Heißluft temperierten Thermostaten untergebracht werden. Auf kurze Aufheizzeiten und die Möglichkeit, Kolonnen schnell auswechseln zu können, wurde besonderer Wert gelegt.

Nach Vorversuchen mit einer Wärmeleitzelle, die sich besonders bei den hohen Temperaturen von 200 bis 250°C als zu unempfindlich und

störanfällig zeigte, wurde die Konstruktion eines Verzweigungs-Systems mit einem Flammen-Ionisations-Detektor in Angriff genommen.

Das sich daraus ergebende Strömungsschema ist in der Abbildung 16 wiedergegeben.

Das Trägergas, Stickstoff, wird auf einen passenden Druck reduziert und gelangt über einen Strömungsmesser und ein Manometer zum Thermostaten. Die Einspeisvorrichtung E besteht aus einem Metallkopf, der nach oben hin mit einer Silikongummiplatte verschlossen ist. Durchsticht man mit der Nadel einer Serumspritze diese Platte, so kann man den Inhalt der Spritze in den Gasstrom drücken. Der Einspeisblock und die Leitung zur Trennsäule können im Bedarfsfalle auch für sich geheizt werden. Die Trennsäule TS befindet sich im Thermostatenraum. In der Gas-Teilung GT wird der aus der Kolonne austretende Trägergasstrom aufgetrennt, z.B. im Verhältnis 100 zu 1. Der größere Teil strömt zur Substanz-Auffang-Vorrichtung AV, in der das Trägergas abgekühlt wird und die einzelnen Komponenten fraktionsweise kondensiert werden. Der kleine Teil des Trägergases wird mit Wasserstoff vermischt und in der Flammen-Ionisationszelle Z verbrannt. Seitlich in die Flammen-Ionisationszelle wird die Verbrennungsluft L eingeleitet. Diese Luft wird aus dem Luftbadthermostaten entnommen und zwar an einer Stelle, die durch das im Thermostaten befindliche Lüfterrad unter Überdruck steht; ein in die Leitung eingeschaltetes Wattefilter hält darin vorhandenen Staub zurück.

Das für die Flammen-Ionisationszelle benötigte Brenngas, Wasserstoff, wird ebenfalls einer Vorratsflasche entnommen, im Druck gemindert und über einen Strömungsmesser und ein Manometer der Zelle zugeführt. Der Hahn H gestattet es, entweder den Kapillar-Strömungsmesser für Wasserstoff nachzueichen oder den Teilstrom des Trägergases, der in die Zelle gelangt, zu messen.

3. Luftbad-Thermostat und Temperatur-Regelung

Der Luftbad-Thermostat wurde in Form eines stehenden Zylinders gebaut. Einzelheiten des Aufbaues gehen aus der Abbildung 17 hervor. Der Innenraum besitzt einen Durchmesser von 20 cm und eine Höhe von

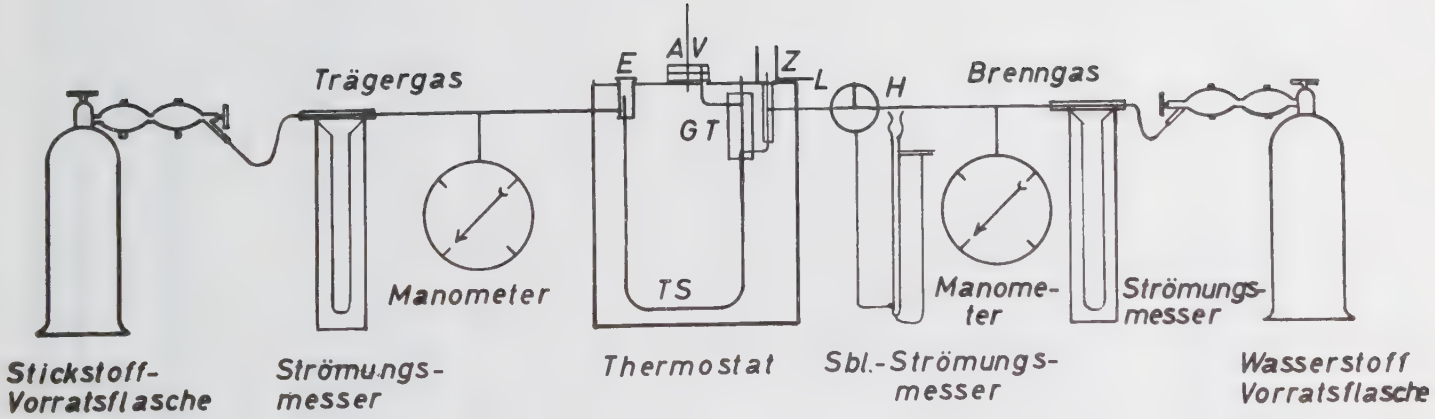

Abbildung 16 Gaschromatograph für präparative Trennungen Strömungsschema

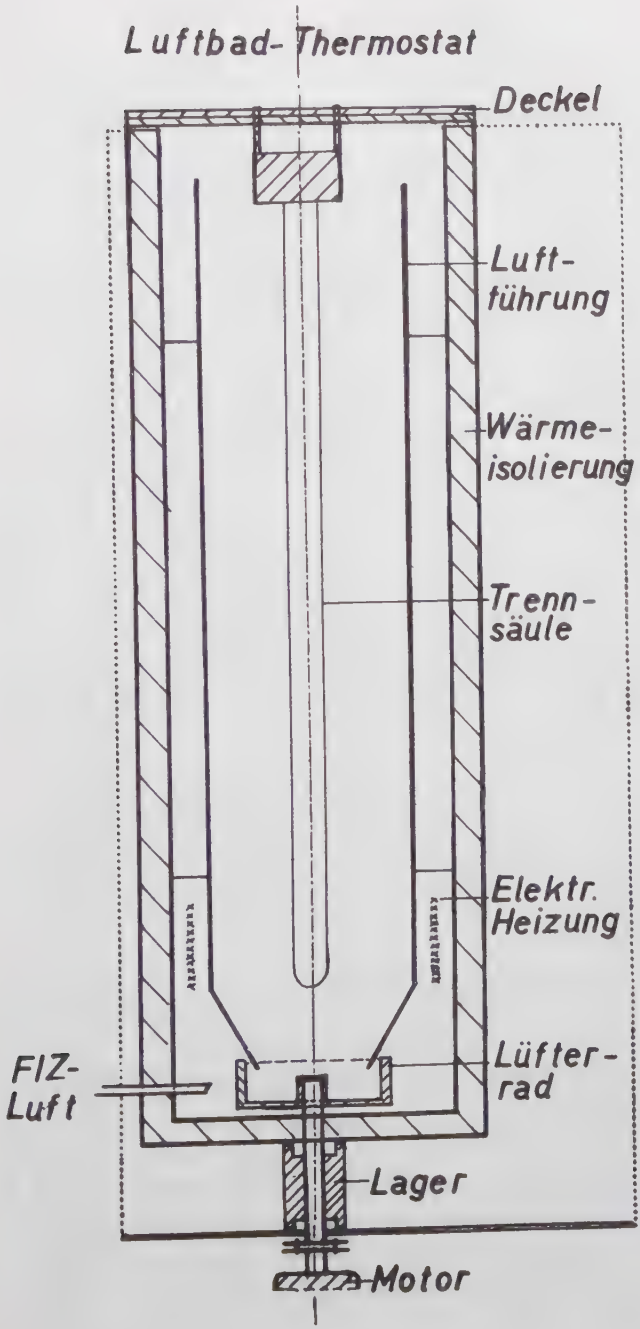

Abbildung 17 Luftbad-Thermostat des präparativen Gaschromatographen

80 cm. Am Boden des Thermostaten befindet sich ein Lüfterrad (Fabrikat Torrington), das über eine Welle und einen Außenläufer-Motor, Typ KLZ 42.75 (Pabst-Motoren, St. Georgen, Schwarzwald) angetrieben wird. Mit einer Umdrehungszahl von 3000 pro Minute wird ein sehr starker Luft-Umlauf erreicht. Zur elektrischen Beheizung befindet sich ein 1000-Watt-Heizgitter (Schniewind, Neuenrade) im äußeren Luftraum. Die Temperatur wird mit einem Kontakt-Thermometer konstant gehalten, das sich am Kopf des Thermostaten befindet und durch ein Loch im Deckel in den Thermostatenraum hineinragt. Das Thermometer schaltet einen äußeren Widerstand vor das Heizgitter, wenn die Temperatur über den Sollwert steigt. Durch den starken Luftumlauf ist die Wärmeübertragung zum Thermometer so gut, daß eine Schaltperiode nur wenige Sekunden dauert. Die Temperatur wird bei 200°C auf besser als $\pm$ 0.5° konstant gehalten.

4. Thermostatenkopf

Der Luftbad-Thermostat ist mit einem Deckel versehen, der vom Thermostaten abgehoben werden kann. Seitliche Führungsstangen und Klemmschrauben geben dem Deckel Halt und verbürgen guten Sitz und Dichtung gegen den Thermostaten.

In eine runde zentrische Öffnung des Thermostatendeckels wird eine Messing-Platte (s. Abbildung 18) geschraubt, welche die Auffang-Vorrichtung, die Gas-Verzweigung, die Flammen-Ionisationszelle und Einspeiskammer trägt. Am Boden dieses Aggregates werden die Kolonnen in hängender Form befestigt.

Der rechte Teil der Zeichnung gibt die Gas-Verzweigung wieder. Das Teilungsverhältnis des Gases wird durch die Eintauchtiefe der Nadel in den Strömungswiderstand bestimmt. Dieser Widerstand ist so ausgelegt, daß bei maximaler Eintauchtiefe praktisch alles Gas zur Brenndüse strömt, bei herausgezogener Nadel aber zur Vorlage. Die Teilungsverhältnisse 1:1, 1:10, 1:100 und auch größere lassen sich leicht einstellen. Die Stopfbuchse ist mit einer Asbestschnur gefüllt, die mit Silikonfett getränkt ist und den gasdichten Abschluß der Nadel verbürgt. Ein elektrischer Heizkörper unter der Brenndüse liefert so viel Wärme, daß jede Kondensation von Substanz in den

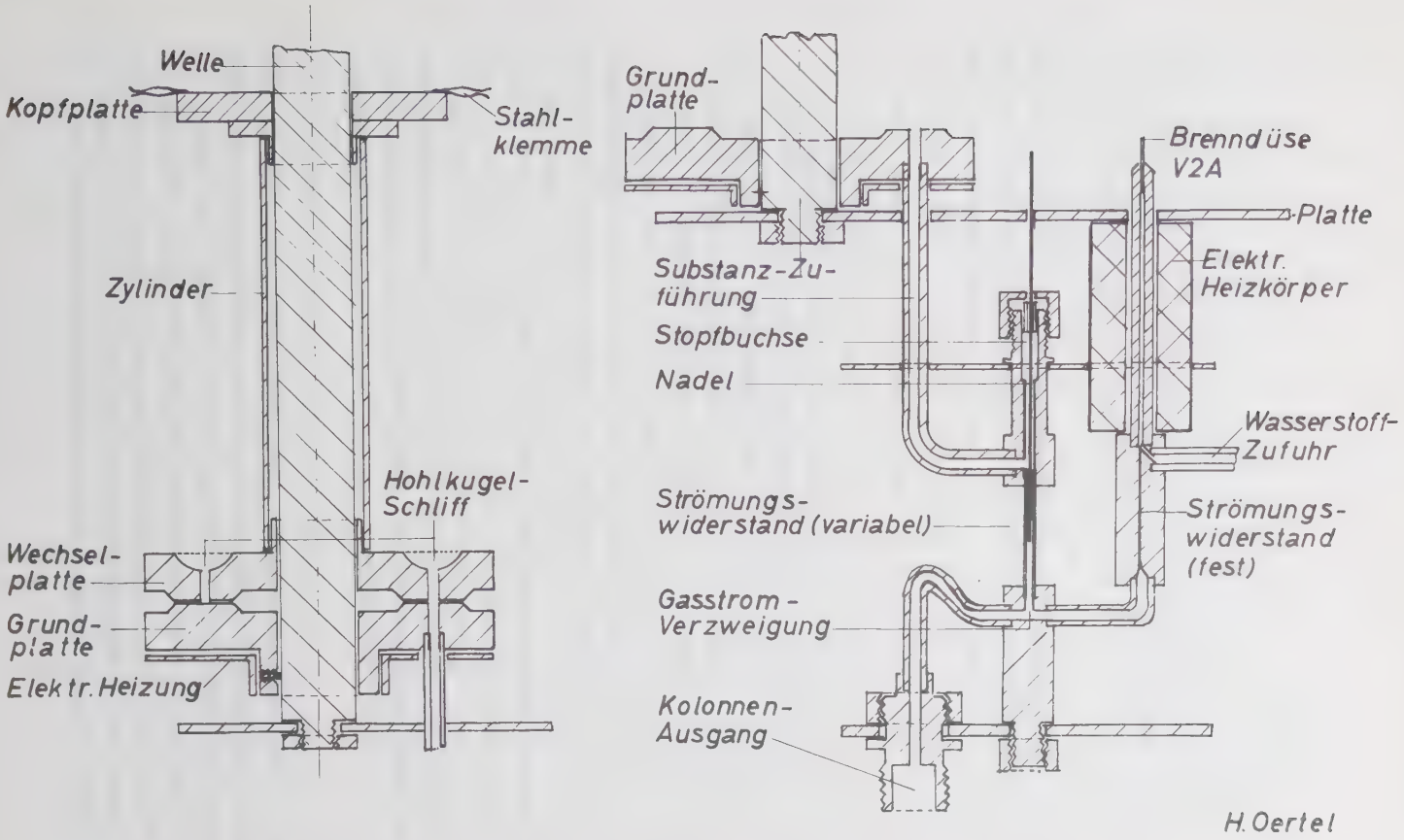

Abbildung 18 Substanz-Auffang-Vorrichtung und Gasführung für präparative Trennungen

Leitungen sicher vermieden wird.

Die Wechselvorlage für das Auffangen der Substanz ist im linken Teil der Abbildung 18 zu sehen. Eine Stahlwelle hält eine Messing-Grundplatte, die mit Hilfe einer Plattenheizung auf eine Temperatur oberhalb der Thermostatentemperatur gebracht werden kann. Auf die runde Grundplatte ist die Wechselvorlage aufgesetzt. Sie läßt sich um die Welle auf einem plangeschliffenen Ring der Grundplatte leicht drehen. In der Wechselplatte befinden sich sechs Hohl-Kugel-Schliffe mit je einer Bohrung nach unten. Je nach der Stellung der Wechselplatte befindet sich eine der Hohlkugeln über der Bohrung für die Substanz-Zuführung in der Grundplatte.

In die Hohlschliffe können Glas-Kugel-Schliffe eingesetzt werden. Der Stutzen eines solchen Kugelschliffes ist S-förmig gebogen und wird durch die Stahl-Klemmen an der Kopfplatte der Auffangvorrichtung gehalten. Mit Hilfe einer Plattenfeder, die nicht eingezeichnet ist, wird die Glaskugel fest in die Hohl-Kugel gepreßt. In dem Rohr-Stutzen der Kugelschliffe fällt die Temperatur schnell ab. Durch einen Aluminium-Einsatz in Form einer Wendel wird der Gasstrom zu einer kreisenden Bewegung gezwungen, so daß kondensierte Stoffteilchen an die Wand geworfen werden. Die Substanz kann wegen der S-Form der Rohre nicht in die Kolonne zurückfließen, sondern sammelt sich in dem tiefsten Abschnitt des S-Bogens an, der zu diesem Zweck noch etwas aufgeblasen ist.

Es ist vorgesehen, den Vorlagenwechsel mit Hilfe eines Drehmagneten über eine Relais-Schaltung am Anzeigesystem zu automatisieren. Im Hinblick darauf wurde auch der Aufbau der Wechsel-Vorlage vorgenommen.

Die aufgefangene Substanz kann nach Herausziehen des Aluminium-Einsatzes mit einer Pipette entnommen oder mit Hilfe eines leichtflüchtigen Lösungsmittels herausgespült werden. Dazu wird der Kugelschliff auf einen kleinen Spitzkolben mit Kugelschliff-Hülse und seitlichem Stutzen gesetzt und auf das obere Ende des Kugelschliff-Stutzens ein Liebig-Kühler gesteckt. Man destilliert jetzt Äther oder ein anderes Lösungsmittel in den Kugelschliff hinein. Der Rück-

fluß spült die gesamte Substanz verlustlos in kurzer Zeit in den Kolben, aus dem anschließend gleich das Lösungsmittel weitgehend abgetrieben wird. Aus dem Kolben kann die Substanz durch den seitlichen Stutzen dann mit einer kleinen, aus einem Glasrohr ausgezogenen Pipette entnommen und in dieser, nach dem Abschmelzen der Enden, aufbewahrt werden.

Sollte die Luftkühlung der Kugelschliffe beim Auffangen der Substanz nicht ausreichen, so können auch Kühler auf die geraden Stutzen der Schliffe gesetzt werden.

5. Trennungsbeispiel für ein Gemisch von zwei Fettsäuremethylestern

Um das einwandfreie Arbeiten der Anzeige- und der Auffangvorrichtung zu prüfen, wurde in den Chromatographen eine Trennsäule von 1 m Länge und 6 mm innerem Durchmesser mit einer Füllung von 30 % Apiezon M auf Sterchamol eingesetzt. Zum Verhindern der Schwanzbildung waren 5 % Polyglykol-600 zugefügt. Diese Kolonne wies 1300 TB für Myristinsäuremethylester auf. Bei 225°C im Thermostaten und 60 ml/min Stickstoffstrom zeigte das Diagramm nach etwa einer halben Stunde die erwartete Spitze; gleichzeitig kondensierte der Ester in der Vorlage.

Für die präparative Trennung von zwei Methylestern wurden etwa 50 mg eines Gemisches von Caprin- und Laurinester eingesetzt. Die Temperatur des Thermostaten betrug 225°C. Das Verhältnis von Haupt- zu Nebenstrom des Gases wurde auf etwa 100 : 1 eingestellt. Die kleine abgezweigte Menge genügte gut, um das Austreten der beiden Ester anzuzeigen.

Beim Erscheinen des Laurinsäure-esters in der Anzeigezelle wurde die Vorlage umgeschaltet. Sowohl das Ausgangsprodukt als auch die präparativ getrennten Ester wurden mit dem analytischen Gaschromatographen untersucht. Beide präparativ erhaltenen Fraktionen waren gaschromatographisch frei von der ursprünglich im Gemisch vorhandenen zweiten Komponente. Die wiedergewonnene Menge entsprach der eingesetzten.

Man kann den Gaschromatographen ohne Schwierigkeiten auch auf Tempe-

raturen von über 250°C aufheizen und dann auch weniger flüchtige Ester trennen.

H Theoretische Beziehungen für die Wirkungsweise und Beurteilung gaschromatographischer Trennungen

Die theoretischen Grundlagen der Gaschromatographie sind während der Entwicklung der Methodik in den letzten Jahren intensiv bearbeitet worden. Besonders zu nennen sind Veröffentlichungen von Martin 16), Glueckauf 17), van Deemter 18) unter vielen wertvollen Beiträgen. Ein Überblick findet sich in den schon genannten Monographien von Keulemans 5), Bayer 6), Kayser 7) sowie bei G. Schay 19).

Es sollen hier nur kurz die Beziehungen und Faktoren besprochen werden, welche die Güte einer gaschromatographischen Trennung beeinflussen und für die Beurteilung und Auswertung der Analysen benutzt werden.

1. Charakterisierung der Substanz

Man erhält mit den heute üblichen Gaschromatographen geschriebene Diagramme, welche die vom Detektor abgegebenen Spannungen in Abhängigkeit von der Zeit wiedergeben. Die Abbildung zeigt schematisch ein solches Diagramm:

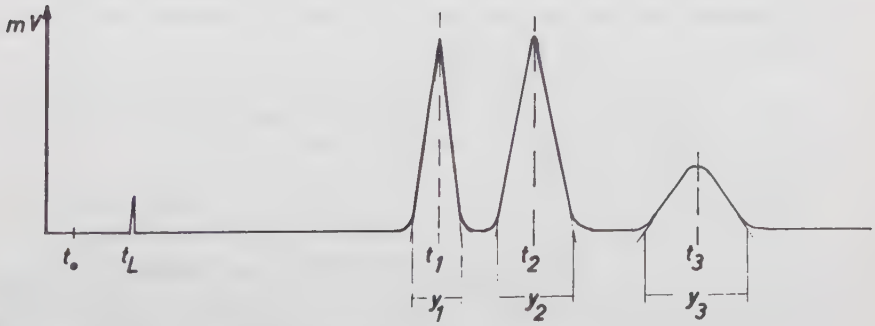

Abbildung 19 Schema eines Schreiberdiagrammes

Zur Charakterisierung einer Substanz dienen die Austrittszeiten, besser jedoch die sogenannten Retentionsvolumina:

$$V_R = t_a \, m$$

V_R = Retentionsvolumen
t_a = Austrittszeit
m = Menge des in der Zeiteinheit strömenden Gases in ml/min

In vielen Fällen hat es sich als zweckmäßig erwiesen, relative Retentionsvolumina anstelle der absoluten zu setzen, um kleine Änderungen in der Strömungsgeschwindigkeit und der Kolonnenfüllung zwischen zwei Analysen zu eliminieren:

$$V_{Rrel} = \frac{V_{Ra}}{V_{Rb}}$$

V_{Rrel} = relat. Retentions-Volumen
V_{Ra} = V_R des Stoffes a
V_{Rb} = V_R des Stoffes b

Als Bezugssubstanz benutzt man einen Stoff, der entweder von vornherein in der Analysenmischung vorhanden ist oder aber zugemischt wird. Für die Analyse von Fettsäuremethylestern dient z.B. der Myristinsäuremethylester bevorzugt als Bezugssubstanz.

Das Retentionsvolumen ist temperaturabhängig, es wird mit steigender Temperatur kleiner. Man erhält meist gerade Linien, wenn man log V_R gegen 1/T aufträgt. Die Temperaturabhängigkeit wird durch das Temperatur-Verhalten des Verteilungs-Koeffizienten K_a bestimmt, da V_{Ra} in direkter Beziehung zu K_a steht.

$$K_a = \frac{\text{Gewicht des Stoffes a/ml stationäre Phase}}{\text{Gewicht des Stoffes a/ml Gas-Phase}}$$

$$V_{Ra} = f.K_a.V_{fl}$$

f = Faktor, der z.B. nichtideales Verhalten, den Druckabfall, das Volumen der Gasphase in der Kolonne und Rohrleitungen, welche die Austrittszeit verzögern, berücksichtigt
V_{fl} = Volumen der Flüssigkeits-Phase

Recht gut läßt sich die Temperaturabhängigkeit des Verteilungs-Koeffizienten durch eine Gleichung vom Antoine-Typ beschreiben, so daß sich für das Retentionsvolumen die Beziehung ergibt:

$$\log V_{Ra} = A + \frac{B}{t + C} \qquad C \qquad 100 - 350$$

2. Trennleistung

Die Trennleistung einer Kolonne wird nach Empfehlung der Kommission für Nomenklaturfragen 20) nach einer Formel von Martin 16) berechnet.

$$n = 16 \left(\frac{x}{y}\right)^2$$

n = Zahl der Trennstufen
x = Entfernung der Spitzen von t_o (s.Abb 19)(in mm)
y = Spitzenbreite (in mm)

n ist z.B. von der Art der Kolonne, der Analysensubstanz, der Temperatur und der Strömungsgeschwindigkeit abhängig. Eine gute Übersicht über die Faktoren, welche die Trennleistung einer Kolonne beeinflussen, wird durch die van Deemter-Gleichung 18) gegeben:

$$HETP = \frac{L}{n} = A + B/u + C.u$$

HETP = Höhe eines theoret. Bodens
L = Kolonnenlänge
A = abhängig von der Packungsart und der Korngröße
B berücksichtigt die Diffusion im Gasraum
C gibt den Widerstand gegen den Massetransport an
u = lineare Trägergas-Geschwindigkeit

Als Meßgröße für die Trennung zweier Stoffe durch eine Säule benutzt man den Begriff der Resolution oder Auflösung R, der durch die Gleichung definiert ist:

$$R = 2 \times \frac{\text{Differenz der Verweilzeiten}}{\text{Summe der Spitzenbreiten}}$$

3. Empfindlichkeit der Anzeige

Um die Empfindlichkeit eines Gaschromatographen für eine Substanz

zahlenmäßig auszudrücken, dient eine Gleichung von Dimbat 21):

$$S = A.C_1.C_2.C_3/W$$

S = Empfindlichkeit in ml mV/mg

A = Fläche der Spitze in cm^2

C_1 = Reziproke Papiergeschwindigkeit des Schreibers in min/cm

C_2 = Schreiber-Meßbereich mV/cm

C_3 = Flußrate des Trägergases ml/min

W = Menge der Analysensubstanz mg

I Gaschromatographische Analyse von Fettsäuremethylestern

1. Allgemeines

Die bei der Analyse von pflanzlichen und tierischen Fetten anfallenden Fettsäuren besitzen Kettenlängen von 4 bis etwa 24 C-Atomen. Neben den normalen geradzahligen Säuren werden ungeradzahlige, verzweigte und vor allen Dingen auch ungesättigte sowie mehrfach ungesättigte Säuren gefunden. Wenn man bedenkt, daß sowohl die Iso-säuren als auch die ungesättigten Säuren in zahlreichen Stellungsisomeren Formen existieren können und daß hierzu noch mit geometrischen Isomerien gerechnet werden muß, so leuchtet ein, daß eine stattliche Zahl von Einzelindividuen zu berücksichtigen ist.

Die klassischen Trennverfahren der Analyse von Fettsäuren, die Destillation, die Flüssig-Flüssig-Verteilung und die Flüssig-Chromatographie haben durch die Gaschromatographie eine außerordentlich wertvolle Bereicherung erfahren. Mit geeigneten Apparaturen und gut gefüllten Trennsäulen kann man heute die Fettsäuremethylester von C_2 bis C_{26} in Zeiten von weniger als einer Stunde qualitativ und quantitativ bestimmen, wenn z.B. nur gesättigte, normalkettige und iso-Säureester vorliegen. Mit stark polaren Säulenfüllungen gelingt es auch, die gesättigten von den ungesättigten Säuren zu trennen, so daß man z.B. in einer Destillatfraktion von C_{18}-methylestern scharfe Aussagen über die Anteile von Stearin-, Öl-, Linolsäure und auch von höher ungesättigten oder ev. konjugierten Säuren machen kann. Selbst über die Stellung einer Doppelbindung erhält man, wie später gezeigt wird, unter Umständen Hinweise.

Wegen der Vielzahl der möglichen Fettsäuremethylester in einem natürlichen Gemisch ist die analytische Gaschromatographie allein nicht in der Lage, vollständige und eindeutige Aussagen zu machen. Es bedarf vielmehr des Zusammenwirkens physikalischer und chemischer Trennverfahren, wobei allerdings der Gaschromatographie eine besondere Bedeutung zukommt.

Die ersten gaschromatographischen Trennungen von Fettsäuremethylestern wurden vor etwa 8 Jahren von Martin und James 4) beschrieben.

Es ist seitdem viel auf diesem speziellen Gebiet gearbeitet worden 22, 23, 24, 25). Obgleich die Fettsäuremethylester mit zu den ersten Stoffen gehören, die gaschromatographisch untersucht wurden, so stellen sie doch an die Qualität der Apparaturen und vor allem der Trennsäulen besonders hohe Anforderungen. Dies liegt einmal daran, daß die höheren Glieder von C_{16} bis C_{26} nur bei Temperaturen zwischen 175 und 250°C untersucht werden können, wenn man annehmbare Analysenzeiten und gute Trennleistungen mit gefüllten Kolonnen erreichen will. Zum anderen will man nicht nur die gesättigten, sondern auch die ungesättigten Fettsäureester analysieren. Dies bedingt Trennsäulen, die spezifische Lösungseigenschaften, d.h. eine hohe Polarität aufweisen. Mit steigender Polarität sinkt aber im allgemeinen auch die Temperaturbeständigkeit, während das Reaktionsvermögen dieser Stoffe steigt. Es ist daher verständlich, daß es nur wenige brauchbare flüssige stationäre Phasen gibt, die den Anforderungen entsprechen. Neben den flüssigen Phasen spielt auch das Trägergasmaterial besonders im Hinblick auf die erreichbaren Trennleistungen eine große Rolle.

Es soll im folgenden über meine Bemühungen berichtet werden, stark polare Kolonnen hoher Wirksamkeit herzustellen und die Trennleistung gefüllter Säulen zu verbessern.

2. Trennsäulen

a) Allgemeines

Die von mir benutzten Trennsäulen bestehen aus Cu- oder V2A-Rohren von 4 oder 6 mm lichter Weite, die in einer Haarnadelform in Längen von 1.00, 1.20 und 1.50 m gestreckt gerechnet zur Verwendung kommen. Sie passen in alle hier beschriebenen Geräte und können bei Bedarf hintereinandergeschaltet werden, so daß 2 x 1.50 bzw. auch bis zu 4 x 1.50 also 6 m Säulenlänge zur Verfügung stehen.

Diese Rohre werden mit einem inerten Trägermaterial gefüllt, das mit einer passenden Flüssigkeit imprägniert wird. Als Trägermaterialien habe ich Sterchamol, Celite 545, Embacel und Chromosorb geprüft. Je nach dem Arbeitsziel erwies sich das eine oder andere der Materialien als besonders geeignet.

Als flüssige Imprägnierungsmittel sind heute zwei Typen für die Analyse von Fettsäureestern im Gebrauch:

1. Umpolare Stoffe wie höhere Schmieröle, Silikonfett, Apiezonfett, Polyäthylen und ähnliche. Diese trennen die Fettsäureester etwa in der Folge der Siedepunkte.

2. Polare Stoffe wie Polyglykole und Polyester, die bei Gliedern gleicher Kettenlänge die gesättigten von den ungesättigten und mehrfach ungesättigten Säuren trennen.

Die Trennsäulen dürfen bei den benutzten Temperaturen nur wenig Substanz abgeben. Als Faustregel wurde aufgestellt 5), daß der Dampfdruck der stationären Phase bei der Kolonnentemperatur kleiner als 1 Torr sein soll. Bei Verwendung hochempfindlicher Detektoren ist dieser Wert aber noch beträchtlich zu hoch. Außerdem darf sich die stationäre Flüssigkeit auch nicht in einem Maße zersetzen, daß die Abgabe merklichen Mengen von flüchtigen organischen Stoffen entspricht.

b) Imprägnieren und Füllen der Trennsäulen

Beim Imprägnieren muß man streng darauf achten, daß das Trägermaterial, das im allgemeinen sehr abriebempfindlich ist, mechanisch möglichst wenig beansprucht wird. Rühren während des Imprägnierens kann sehr schädlich sein. Am besten bewährt es sich, den Träger mit so viel einer Lösung des zu imprägnierenden Stoffes zu versetzen, daß noch keine freie Flüssigkeit sichtbar wird, jedoch alle festen Teilchen benetzt sind. Nach vorsichtigem Abdampfen des Lösungsmittels wird wiederum mit der Lösung versetzt, abgedampft und so fort, bis alles Imprägnierungsmittel aufgebracht ist. Man erhält so eine sehr schonende, gleichmäßige Beschichtung.

Das völlig trockene und rieselfähige imprägnierte Produkt wird unter Vibration und gelegentlichem Stoßen in Längsrichtung des Rohres dicht in die haarnadelförmigen Rohre gepackt.

Wenn das Material durch weiteres Stoßen und Vibrieren nicht mehr dichter gepackt werden kann, dann wird in beide Rohrenden je ein Glas-

wollebausch eingesetzt, der das Herausrieseln der Füllung verhindert.

c) Kolonnen mit unpolarer stationärer Phase

Für das Imprägnieren von Kolonnen mit unpolaren Lösungseigenschaften kommen vor allem Apiezonfette M und L und Silikonfett in Frage, wenn man bei höheren Temperaturen arbeiten will. Für niedere Temperaturen sind Paraffinöle, Transformatorenöle oder Silikonöle gut geeignet. Polyäthylen ist als stationäre Phase für hohe Temperaturen verwendbar, jedoch macht das gleichmäßige Imprägnieren mit diesem sehr wenig löslichen Stoff Schwierigkeiten.

Silikonfett besitzt ein geringeres Lösungsvermögen für Fettsäuremethylester als die Apiezonfette. Man benutzt es mit Vorteil dann, wenn man die höheren Glieder C_{22} bis C_{26} relativ schnell analysieren will.

Als allgemein anwendbare unpolare Säulenfüllung hat Apiezonfett die breiteste Anwendung gefunden. Es hat gute Lösungseigenschaften und läßt sich leicht imprägnieren. Die Handelsprodukte M und L enthalten Beimengungen, wahrscheinlich Salze von Fettsäuren, die nicht in Äther löslich sind. Man muß über eine Ätherextraktion das Fett in einer für die Gaschromatographie ausreichenden Reinheit gewinnen.

Das feste Trägermaterial

Imprägniert man ein im Handel erhältliches festes Trägermaterial wie Sterchamol oder Chromosorb mit einem Ätherextrakt aus Apiezonfett, so zeigen die Chromatogramme von Estern Spitzen mit langen Schwänzen oder im Extremfall überhaupt nur noch flache Wellen. Diese Erscheinung beruht auf aktiven Zentren des Trägermaterials mit Rest-Adsorptionskräften für Estermoleküle. Die Abbildung 20 zeigt die Trennung von Methylestern gesättigter Fettsäuren von C_{10} bis C_{18}. Die Schwänze sind überlang, die Spitzen dadurch niedrig. Ein Chromatogramm mit Sterchamol würde die Störung durch Adsorption noch stärker zeigen. Bei Celite als Träger sind die Schwänze viel kleiner aber noch sichtbar.

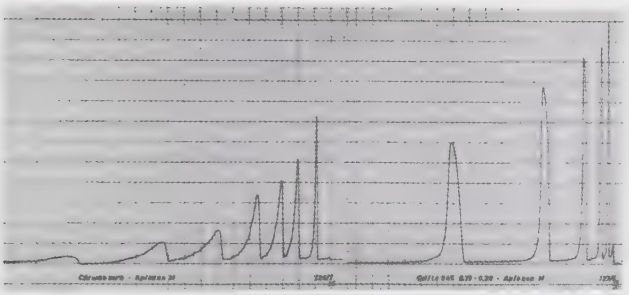

Abbildung 20 Trennung von Methylestern mit einer Chromosorb-Apiezon-M- und einer Celite-Apiezon-M-Säule

Embacel s. Abbildung 21 gibt praktisch symmetrische Spitzen. Bei guter Füllung erreicht man mit derartigen Kolonnen von 1.20 m Länge über 3000 Trennstufen.

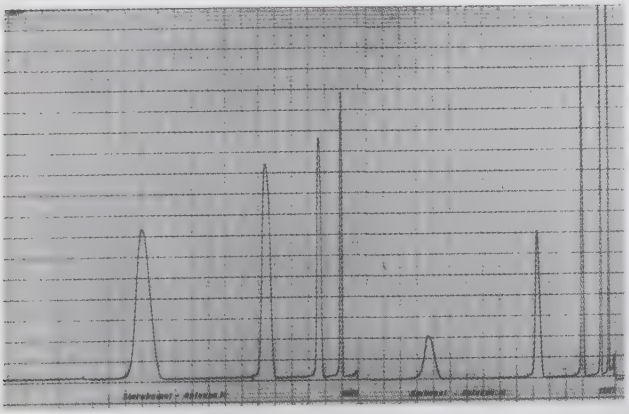

Abbildung 21 Trennung mit einer vergifteten Sterchamol-Apiezon-M- und einer Embacel-Apiezon-M-Kolonne

Will man eine gute unpolare Kolonne herstellen, so wird man entweder Träger wie Embacel benutzen oder man muß versuchen, die aktiven Zentren des Trägers zu vergiften und dadurch unwirksam zu machen.

Ich konnte besonders gute Erfolge mit der Zugabe von Polyglykol erreichen. Man trägt das Apiezonfett zusammen mit etwa 5 % Polyglykol 600 auf und heizt die Kolonne bei 250°C über Nacht aus. Dabei dampft das Polyglykol fast vollständig ab, belegt aber die aktiven Zentren nachhaltig. Sterchamol, mit Polyäthylenglykol vergiftet, zeigt keine Schwänze und vollendet symetrische Spitzen (s. Abbildung 21, linkes Diagramm). Allerdings erreicht man wegen der Oberflächeneigenschaften nicht ganz die gleiche Zahl von Trennstufen wie mit Embacel.

Kolonnen mit Sterchamol als Träger müssen eine Imprägnierung von mindestens 20 % Apiezonfett erhalten, um ausreichende Trennleistungen zu geben. Embacel benötigt nur etwa 15 % Imprägnierungsmittel für eine ausreichende Bedeckung der Oberfläche.

Mit einer so gefüllten unpolaren Kolonne kann man z.B. die einzelnen Kettenlängen, Isosäuren von n-Säuren und ungesättigte von gesättigten Säuren trennen. Linol- und Linolensäuremethylester erscheinen zusammen mit Öl- und Elaidinsäuremethylester in einer Spitze, wenn man Kolonnen von weniger als 3000 TB benutzt (s. Abbildung 22 rechts). Durch eine Kolonne von 4500 TB werden die mehrfach ungesättigten Säuren abgesetzt von der einfach ungesättigten (s. Abbildung 22 links).

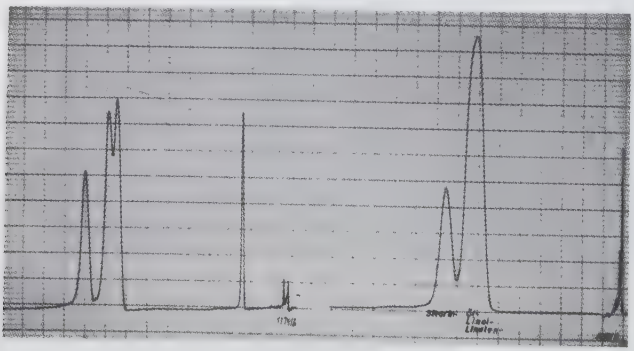

Abbildung 22 Trennung von Öl-, Linol-, Linolen- und Stearinsäuremethylester an unpolaren Kolonnen verschiedener Trennstufenzahl

d) Kolonnen mit polarer stationärer Phase

Für die Trennung der ungesättigten Fettsäuremethylester von den entsprechenden gesättigten Gliedern wurden Polyester beschrieben 23), die sich aus einer Glykolkomponente und einer Dikarbonsäure aufbauen. All diesen Polyestern gemeinsam sind stark polare Lösungseigenschaften, die sich dahingehend auswirken, daß bei der gaschromatographischen Analyse ungesättigte Homologe gegenüber den gesättigten verzögert austreten. Diese Verzögerung kann so groß sein, daß z.B. Ölsäure, die in unpolaren Kolonnen vor der Stearinsäure wandert, in polaren Säulen zeitlich nach der Stearinsäure und zwar scharf davon abgesetzt erscheint (s. Abbildung 23).

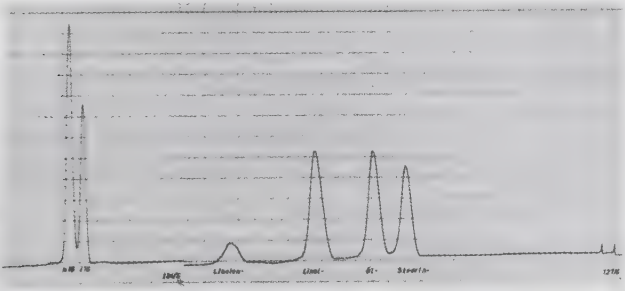

Abbildung 23 Trennung von Stearin-, Öl-, Linol- und Linolensäuremethylester, sowie Palmitin- und iso-C_{16}-Säuremethylester mit einer Diglykol-Succinat-Polyester-Kolonne

Beim Füllen von Trennsäulen mit Polyestern als stationärer Phase muß man berücksichtigen, daß der Verteilungskoeffizient kleiner ist als in Kolonnen mit unpolarer stationärer Phase, d.h. die Löslichkeit von Fettsäuremethylestern in Polyestern bei einer bestimmten Temperatur ist geringer als in Paraffinkohlenwasserstoffen. Daher ist mit Polyestern als Kolonnenfüllung bei gleicher Kolonnenlänge und Menge der stationären Flüssigkeit eine geringere Zahl von Trenn-

stufen zu erwarten, als bei Apiezon-Kolonnen. Um dies auszugleichen, muß man Ester-Kolonnen stärker imprägnieren oder weitere Rohre bzw. längere Trennsäulen verwenden, um insgesamt mehr flüssige Phase unterzubringen.

Die stärkere Imprägnierung ist auch noch aus einem anderen Grunde zu empfehlen. Alle Polyesterkolonnen geben bei höheren Temperaturen laufend Substanzen aus der stationären Phase ab, die Abbauprodukte der hochmolekularen Polyester darstellen. Je nach Art und Herstellung des Polyesters schwankt die ausgetragene Substanzmenge je Zeiteinheit. Im allgemeinen werden dadurch die Kolonnen langsam schlechter und sind nach einer Betriebszeit von einem bis zwei Monaten bei 200°C nur noch für Analysen mit geringen Ansprüchen zu gebrauchen. Je stärker die Anfangs-Imprägnierung war, um so länger kann man die Kolonne benutzen. Allerdings muß man einen Kompromiß schließen, da bei zu starker Imprägnierung die Trennleistung sinkt.

Trägermaterial für polare Kolonnen

Auf ihre Brauchbarkeit als Trägermaterialien für die polare stationäre Phase wurden die Handelsprodukte Celite 545, Embacel, Sterchamol und Chromosorb geprüft.

Sterchamol und Chromosorb: Diese beiden Materialien haben etwa die gleichen Eigenschaften in bezug auf erreichbare Trennleistung und die erforderliche Menge an stationärer Flüssigkeit, um eine ausreichende Belegung der Oberfläche zu erreichen. Die optimale Korngröße für Kolonnen von 4 bis 6 mm lichter Weite ist 0.25 bis 0.3 mm. Um gute Trennsäulen ohne Schwanzbildung zu erhalten, muß man mindestens 25 % Polyester auf das Sterchamol aufbringen. In eine Kolonne von 4 mm lichter Weite und 1.50 m Länge lassen sich etwa 10 g imprägniertes Trägermaterial füllen. Es befinden sich also in einer 3 m -Kolonne etwa 4 g Polyester. Mit einer derartigen Kolonne und Diglykol-Succinat als flüssiger Phase erhält man zwar keine vollständige Trennung des Stearin- vom Ölsäuremethylester, jedoch reicht die Trennleistung für ein quantitatives Auswerten aus. Der besondere Vorteil von Sterchamol-Füllungen liegt darin, daß verbrauchte Kolonnen leicht entleert werden können. Das Material backt in der Kolonne

bei hohen Temperaturen nicht zusammen. Das leichte Füllen und Entleeren der Kolonnen ist bei diesen kurzlebigen Füllungen ein entscheidender Faktor.

Embacel und Celite 545: Siebfraktionen von Celite und Embacel sind spezifisch leichter als Sterchamol und Chromosorb. Sterchamol besitzt ein Gewicht von etwa 400 g/Liter, während Embacel etwa 260 g/Liter wiegt. Auch bei Embacel liegt die optimale Imprägnierung von Polyestern zwischen 20 und 25 %. Das bedeutet, daß eine Kolonne von 3 m Länge nur etwa 12 g des Füllmaterials enthält, wovon etwa 2.5 g auf den Polyester entfallen. Trotz der geringeren Menge an stationärer Flüssigkeit geben Embacel-Kolonnen etwa dieselben Trennstufenzahlen bei gleicher Länge, wie solche, die mit Sterchamol gefüllt sind. Sie haben dabei den Vorteil wesentlich kürzerer Austrittszeiten. Dementsprechend ist die Gesamtzeit für die Analyse geringer.

Ein Nachteil der mit Celite bzw. Embacel und mit Polyester gefüllten Säulen besteht darin, daß sie im Betrieb stark verbacken und nur mit großer Mühe aus verbrauchten Kolonnen entfernt werden können. Man wird deshalb nur dann diese Kieselgur-Materialien in Verbindung mit Polyestern verwenden, wenn es auf kurze Analysenzeiten ankommt.

3. Herstellung und Eigenschaften von Polyestern

Herstellung der Polyester

Je ein Mol der Dikarbonsäure und des gewünschten Glykols werden in einem mit seitlichem Stutzen versehenen Rundkolben auf etwa 200°C erhitzt. Ist die ganze Masse durchgeschmolzen, so gibt man 0.1 bis 0.2 g einer aromatischen Sulfosäure (z.B. p-Toluol-sulfosäure) als Katalysator hinzu, verschließt den Kolben mit einem durchbohrten Stopfen, leitet Stickstoff über das Reaktionsgemisch und hält die Temperatur etwa 4 Stunden auf 180 bis 200°C. Während dieser Zeit destilliert laufend Wasser zusammen mit etwas Glykol und Dikarbonsäure ab. Zum Schluß unterbricht man den Stickstoffstrom, hält die Temperatur und schließt den Kolben noch für einige Stunden an eine Wasserstrahlpumpe an. Nach dem Abkühlen erhält man wasserklare bis

tief braun gefärbte Produkte. Diese können in Äthylacetat aufgelöst und durch Zugabe von Äther fraktioniert gefällt werden. Die abgeschiedenen höherpolymeren Anteile dienen nach Vertreiben des Lösungsmittels als stationäre Phase. Die so gereinigten Präparate geben geringere Nullströme.

Eigenschaften der Polyester

Nach dem eben beschriebenen Verfahren habe ich eine Reihe von Polyestern hergestellt, die auf ihre Brauchbarkeit als polare flüssige stationäre Phasen untersucht wurden. Es handelte sich um:

Monoglykol-Adipinsäure-Polyester	(Gl-Ad)
Diglykol-Adipinsäure-Polyester	(DGl-Ad)
Polyglykol-300-Adipinsäure-Polyester	(PGl-Ad)
Diglykol-Bernsteinsäure-Polyester	(DGl-S)
Propylenglykol-Bernsteinsäure-Polyester	(PrGl-S)

Auf ein Anreichern der höhermolekularen Anteile durch Auflösen in Äthylacetat und Ausfällen mit Äther wurde bei diesen vergleichenden Untersuchungen verzichtet. Neben diesen selbst hergestellten Estern wurde auch das Handelsprodukt:

Reoplex-400	(Rpl)

eingesetzt. Diese Ester wurden in einer Menge von 25 % auf Sterchamol (Korngröße 0.25 bis 0.3 mm) gebracht und in Trennsäulen von 4 mm lichter Weite und einer Gesamtlänge von 2.80 m gefüllt. Fettsäuremethylester der Kettenlänge von 10 bis 18 C-Atomen sowie Öl-, Linol- und Linolensäuremethylester wurden in dem mit Flammen-Ionisations-Detektor ausgerüsteten Chromatographen bei einer Temperatur von 207°C im Thermostatenraum untersucht. Die eingespeiste Substanzmenge betrug etwa 1 mg je Analyse, als Strömungsgeschwindigkeit wurden 40 ml Stickstoff/min eingestellt.

Die folgende Tabelle enthält die ausgemessenen relativen Retentionsvolumina, bezogen auf Myristinsäuremethylester = 1.00

Tabelle 2

C-Zahl	Gl.-Ad.	DGl.-Ad.	Pgl.-Ad.	DGl.-Succ	Pr.G.-S.	Reoplex
10	0.32	0.31	0.29	0.39	0.35	0.32
12	0.56	0.55	0.53	0.61	0.57	0.55
13	0.74	0.74	0.72	0.79	0.76	0.74
14	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
15	1.34	1.35	1.37	1.29	1.33	1.35
16	1.82	1.84	1.89	1.69	1.79	1.84
17	2.45	2.51	2.58	2.20	2.41	2.51
18	3.33	3.43	3.54	2.98	3.26	3.42
Öl-	3.66	3.78	3.86	3.41	3.58	3.69
Linol-	4.36	4.47	4.53	4.18	4.20	4.37
Linolen-	5.25	5.42	5.53	5.38	5.4	5.30
$\frac{V_{Öl-}-V_{18}}{V_{18-}-V_{17}}$	0.38	0.38	0.34	0.55	0.38	0.30

Die Tabelle läßt auf den ersten Blick keine großen Unterschiede zwischen den Spalten, die für je eine der stationären Flüssigkeiten gelten, erkennen. Bildet man aber die Differenzen der relativen Retentionsvolumina zwischen Ölsäure- und Stearinsäureester einerseits sowie Stearinsäure- und Heptadekansäureester andererseits und dividiert die erste Differenz durch die zweite, so erhält man ein Maß für die polaren Eigenschaften der Kolonne (letzte Zeile der Tabelle 2). Die Polarität ist abgestuft in der Reihenfolge:

Polarität: DGl-S > DGl-Ad, Gl-Ad, PrGl-S > PGl-Ad > Rpl

Wichtig ist auch der Zeitbedarf für Analysen mit den verschiedenen Estern. Als Maß kann man die Zeiten verwenden, die jeweils bei einer bestimmten Strömungsgeschwindigkeit und Temperatur bis zum Austritt von C_{18}-methylester gebraucht werden. Für die relativen Arbeitszeiten besteht die Reihe:

Zeitbedarf: DGl-S < Gl-Ad < DGl-Ad < PrGl-S < Rpl < Pg-Ad

Die Unterschiede sind allerdings nicht sehr groß. Im Extremfall kann das Verhältnis der Zeiten für zwei Ester etwa 1:2 sein.

4. Verwendung verschiedener Kolonnen für die Analyse von Methylestern

Die vorangegangenen Untersuchungen hatten gezeigt, daß für die Analysen von Fettsäuremethylestern mit unpolaren Kolonnen bei hohen Temperaturen Apiezonfett M oder L besonders geeignet ist. Für die Analyse mit polaren Kolonnen wird man je nach dem Arbeitsziel das hochpolare Diglykol-Succinat oder das schwächer polare Reoplex benutzen.

Um die verschiedenen Eigenschaften dieser Kolonnentypen zahlenmäßig erfassen zu können, wurden relative Retentionsvolumina einer größeren Zahl homologer Fettsäuremethylester bei verschiedenen Temperaturen bestimmt. Außerdem wurden die Werte für Dicarbonsäuremethylester, Ester ungesättigter Carbonsäuren und für einige seltenere Carbonsäuren ermittelt.

Für diese Untersuchungen dienten erstens eine Diglykol-Succinat-Kolonne mit wenig flüssiger stationärer Phase für schnelle Analysen, besonders von Gemischen ungesättigter und gesättigter Fettsäuremethylester; zweitens eine Reoplex-400-Kolonne mit starker Imprägnierung und guter Trennleistung, gedacht für die Analyse homologer Glieder und für Gemische von Monocarbonsäure- und Dicarbonsäureestern; schließlich drittens trennscharfe, unpolare Apiezon-M-Kolonnen.

Die Trennsäule mit Diglykol-Succinat-Füllung bestand aus einem Kupferrohr von 6 mm lichter Weite und 2.8 m gesamter Länge. Trägermaterial war Embacel, mit einer Imprägnierung von 21 % Diglykol-Succinat. Das Gewicht der Füllung betrug 24.3 g, wovon etwa 4 g auf den Polyester entfielen. Als Trennstufenzahl wurden für Stearinsäuremethylester bei 205°C 1350 gemessen. Die Resolution für das Paar Stearinsäure-Ölsäuremethylester betrug 1.3, die Austrittszeit für Stearinsäuremethylester bei 205°C und 60 ml/min Flußrate des Trägergases 15 Minuten.

Die Reoplex-400-Kolonne bestand aus einem Kupferrohr von 6 mm lichter Weite und 3 m gesamter Länge. Trägermaterial war Embacel mit einer Imprägnierung von 30 % Reoplex-400. Das Gewicht der Füllung

betrug 30.6 g, wovon 7 g auf die flüssige Phase entfielen. Als Trennstufenzahl für Stearinsäuremethylester bei 205°C wurden 3300 ermittelt. Die Resolution für das Paar Stearinsäure-Ölsäuremethylester betrug R = 1.6, die Austrittszeit für Stearinsäuremethylester bei 205°C und 60 ml/min Strömungsgeschwindigkeit des Trägergases 74 Minuten.

Die Apiezon-M-Kolonne, lichte Weite 4 mm, wirksame Länge 2.20 m, enthielt eine Füllung von 15 % Apiezonfett auf Embacel. Stearinsäuremethylester trat bei 235°C Kolonnentemperatur und 30 ml/min Strömungsgeschwindigkeit des Argons nach 50 Minuten aus der Kolonne aus, Trennstufenzahl 4.500. Auch eine gleiche Kolonne, jedoch mit 1.10 m Länge, kam zur Verwendung.

Die folgenden Tabellen enthalten die gemessenen relativen Retentionsvolumina, auf Myristinsäuremethylester = 1 bezogen.

Die mit polaren Säulen aufgenommenen Werte wurden in der Apparatur mit Flammen-Ionisations-Detektor ermittelt. Die Apiezon-M-Kolonne wurde in dem Gerät mit ß-Strahlen-Ionisationszelle betrieben.

Tabelle 3 Relative Retentionsvolumina von Methylestern auf Myristinsäuremethylester bezogen.
M = Monocarbonsäureester, D = Dicarbonsäureester

	Apiezon-M-Kolonne Ø 4 mm, Länge 1.10 m 30 ml/min Argon	
	175°C	202°C
M 6	0.024	-.-
D 4	0.041	-.-
M 7	0.042	-.-
D 5	0.061	-.-
M 8	0.064	-.-
D 6	0.091	-.-
M 9	0.095	-.-
D 7	0.13	-.-
M 10	0.15	0.22
D 8	0.21	0.29
M 11	0.23	0.32
D 9	0.34	0.42
M 12	0.38	0.46
D 10	0.55	0.60
M 13	0.61	0.67
D 11	0.87	0.91
M 14	1.00	1.00
D 12	1.54	1.41
M 15	1.63	1.50
M 16	2.66	2.26
M 17	4.38	3.44
M 18	7.15	5.29
Heptadecinsäure-		3.24
Öl-,Linol-,Linolensäure-		4.37-4.47
Octadecinsäure-		4.79

	Apiezon-M-Kolonne Ø 4 mm, Länge 2.20 m 30 ml/min Argon
	235°C
D 6	0.23
M 9	0.23
D 7	0.29
M 10	0.30
D 8	0.38
M 11	0.40
D 9	0.50
M 12	0.53
D 10	0.69
M 13	0.72
D 11	0.96
M 14	1.00
D 12	1.35
M 15	1.40
D 13	1.90
M 16	1.96
D 14	2.66
M 17	2.77
D 15	3.74
M 18	3.95
D 16	-.-
M 19	5.59
D 17	-.-
M 20	7.86
Linolensäure-	3.37
Linolsäure-	3.4-3.5
Ölsäure-	3.53
Mangoldsäure-+)	4.95
Ricinolsäure-	6.64
12-Hydroxy-stearinsäure	7.20

+) tt- Δ 9,11 Oktadekadiensäure-

Tabelle 4 Relative Retentionsvolumina von Methylestern auf Myristinsäuremethylester bezogen
M = Monocarbonsäureester, D = Dicarbonsäureester

Digl.Succ.-Kolonne Ø 6 mm, Länge 2.80 m 60 ml/min N_2			Reoplex-Kolonne Ø 6 mm, Länge 3.0 m 60 ml/min N_2			
	205°C	175°C		205°C	193°C	183°C
			M 2	0.072	0.058	0.043
			M 3	0.080	0.063	0.048
			M 4	0.089	0.072	0.055
			M 5	0.10	0.084	0.069
			M 6	0.13	0.10	0.085
			M 7	0.15	0.13	0.11
			M 8	0.19	0.17	0.15
			M 9	0.24	0.22	0.19
M 10	0.46	0.35	M 10	0.32	0.29	0.27
			D 4	0.35	0.32	0.26
M 11	0.55	0.44	M 11	0.41	0.39	0.51
			D 5	0.48	0.45	0.41
M 12	0.66	0.57	M 12	0.55	0.53	0.51
D 4	0.67	0.66	D 6	0.68	0.65	0.61
M 13	0.81	0.75	M 13	0.74	0.73	0.72
D 5	0.84	0.84	D 7	0.92	0.89	0.87
M 14	1.00	1.00	M 14	1.00	1.00	1.00
D 6	1.08	1.1	D 8	1.25	1.25	1.24
M 15	1.25	1.33	M 15	1.35	1.38	1.43
D 7	1.38	1.45	D 9	1.70	1.74	1.76
M 16	1.59	1.80	M 16	1.84	1.91	2.02
D 8	1.75	1.90	D 10	2.31	2.40	2.50
M 17	2.04	2.46	M 17	2.51	2.66	2.84
D 9	2.24	2.6	D 11	3.14	3.33	-.-
M 18	2.63	3.36	M 18	3.42	3.70	4.02
D 10	2.85	3.46	D 12	4.2	-.-	-.-
M 19	3.43	4.5	M 19	4.5	-.-	-.-
D 11	3.65	4.5	D 13	5.5	-.-	-.-
M 20	4.47	6.2	M 20	4.47	-.-	-.-

Tabelle 5

Relative Retentionsvolumina von Methylestern auf Myristinsäureester bezogen.

M = Monocarbonsäuremethylester, D = Dicarbonsäuremethylester

	Reoplex-Kolonne ø 6 mm, Länge 3.0 m 60 ml/min N_2		
	150°C	125°C	100°C
M 2	0.012	0.0052	0.0020
M 3	0.014	0.0064	0.0026
M 4	0.017	0.0085	0.0038
M 5	0.023	0.012	0.0063
M 6	0.032	0.019	0.011
M 7	0.045	0.036	0.018
M 8	0.066	0.046	0.031
M 9	0.094	0.072	0.053
M 10	0.15	0.12	0.093
M 11	0.24	0.19	0.16
M 12	0.37	0.33	0.30
M 13	0.61	0.57	0.54
M 14	1.00	1.00	1.00
Vinylessigsäure-			0.0055
Crotonsäure-			0.0076
M 6 en Δ 5			0.0141
M 6 en Δ 4			-.-
M 6 en Δ 3 trans			0.0162
M 6 en Δ 2 trans			0.020
M 6 dien Δ 2,4 +)			0.048
i M 7 (endständig)			0.014

+) Sorbinsäure

Darstellung der ungesättigten Ester s. B. Kuchenbuch 27)

Tabelle 6

Relative Retentionsvolumina von ungesättigten Methylestern auf Myristinsäuremethylester bezogen

en = einfache Doppelbildung, dien zweifache, in dreifache Bindung usw., i = iso-Säure

Reoplex-Kolonne
ø 6 mm, Länge 3.0 m
60 ml/min N_2
205°C

M 11	0.41
M 11 en, Δ 3; 9; 10	0.48 bis 0.51
M 11 en Δ 10	0.51
M 12	0.55
M 12 en Δ 3; 9; 11	0.65 bis 0.70
M 14	1.00
M 14 en Δ 5; 9; 11; 13	1.11 bis 1.19
Mi16	1.58
M 16	1.84
M 16 en Δ 7; 9; 11	2.02 bis 2.09
M 16 dien Δ 7, 10	2.39
M 16 dien Δ 9, 12	2.54
M 16 trien Δ 7, 10, 13	2.98
M 16 trien Δ 9, 12, 15	3.27
M 17	2.51
M 17 en Δ 8; 9; 11	2.73
M 17 dien Δ 8, 11	3.21
M 17 dien Δ 9, 12	3.30
M 17 in Δ 9	4.25
M 18	3.42
M 18 en Δ 9	3.74
M 18 dien Δ 9, 12	4.38
M 18 in Δ 9	5.09
M 18 trien Δ 9, 12, 15	5.46
M 18 dien Δ 9, 11 (Mangoldt)	6.95

Die verschiedenen polaren Eigenschaften kommen am stärksten in der Verschiebung von Dicarbonsäureestern gegenüber den Monocarbonsäureestern zum Ausdruck.

Aus der Tabelle 6 geht hervor, daß die in der polaren Reoplex-Kolonne aufgenommenen relativen Retentionsvolumina der Ester von ungesättigten Carbonsäuren allgemein größer sind als die der entsprechenden gesättigten Ester. Auch die Stellung der Doppelbindung in der Kette hat Einfluß auf das Retentionsvolumen. Dies kommt vor allem bei den stellungsisomeren Dienen und Trienen zum Ausdruck und zwar derart, daß die vom Carboxylende weiter entfernten Doppelbindungen eine stärkere Verzögerung in der Kolonne verursachen. Vermutlich durchlaufen die Retentionsvolumina in Abhängigkeit von der Stelle der Doppelbindung ein Minimum bei der Lage in der Mitte (s. unten). Geringe Verschiebungen einer isolierten Doppelbindung in der Mitte der Kette z.B. von $\Delta 7$ auf $\Delta 8$ und $\Delta 9$ in einer Heptadecinsäure haben keinen merklichen Einfluß auf das Retentionsvolumen. Die Spitzen eines Gemisches dieser drei Ester sind lediglich etwas breiter als die eines der drei reinen Ester, wenn man Kolonnen benutzt, die wie die Reoplex-Säule etwa 3000 Trennstufen besitzen.

Die Tabelle 5 zeigt einen starken Einfluß der Stellung einer Doppelbindung, wenn diese in die Nähe der Carboxylgruppe rückt. Eine in $\Delta 2$ stehende Doppelbindung, die in Konjugation zur C=O-Gruppe der Ester steht, weist eine besonders starke Verzögerung in der Kolonne auf. Auch die $\Delta 3$ Stellung zeigt den Effekt noch, wenn auch in schwächerem Maße. Konjugierte Doppelbindungen in der Kette, wie sie z.B. in der Mangoldsäure vorliegen, geben eine starke Verzögerung der relativen Retentionsvolumina gegenüber der Linolsäure, die zwei isolierte Doppelbindungen besitzt. Untersuchungen natürlicher Gemische 26) verschiedener isomerer Undecensäuremethylester deuteten darauf hin, daß eine endständige Doppelbindung in Form einer Vinylgruppe eine stärkere Verzögerung in der Kolonne bewirkt, als eine mittelständige. Die Acetylenbindung erhöht das Retentionsvolumen ebenfalls stark.

5. Praktische Anwendung der Gaschromatographie auf die Analyse von Fettsäuren

Analysiert man Gemische natürlicher pflanzlicher oder tierischer Fett-

säuremethylester im Gaschromatographen, so kann man für die Hauptkomponenten scharfe Aussagen darüber machen, welche Kettenlängen sich im Gemisch befinden, ob verzweigte Säuren und welche Sättigungsgrade vorhanden sind. Allerdings genügt es dabei nicht, nur mit einer Trennsäule zu analysieren, sondern man muß mindestens zwei Chromatogramme aufnehmen, eins mit einer polaren und eins mit einer unpolaren Kolonne. Der Nachweis von Isosäuren bleibt aber auch dann unter Umständen etwas unsicher, weil in der unpolaren Kolonne diese Säuren mit den ungesättigten Gliedern gleicher Kettenlänge und in einer polaren mit den ungesättigten der nächst kleineren C-Zahl zusammenfallen können. In der Regel werden Isosäuren nur als Nebenbestandteile in den natürlichen Fetten auftreten und werden dann besser in der unten beschriebenen Weise nachgewiesen. Die Deutung der einzelnen Spitzen erfolgt mit Hilfe der bekannten relativen Retentionsvolumina (s.a. A.T. James 25)).

Will man auch Nebenbestandteile erfassen, so muß man wegen der großen Zahl von Einzel-Individuen entweder mit mehr als zwei voneinander verschiedenen polaren Trennsäulen arbeiten oder noch besser zunächst angereicherte Fraktionen durch Destillation oder präparative Gaschromatographie herstellen. Diese Fraktionen können eventuell auch noch durch eine Quecksilber-Addukt-Trennung 28) in gesättigte und ungesättigte Anteile zerlegt werden. Solche Präparate lassen sich gaschromatographisch sehr genau analysieren. Besonders gute Dienste leistet die Gaschromatographie auch bei der Analyse der durch oxydative Spaltung ungesättigter Fettsäuren erhaltenen Bruchstücke, die Aussagen über die Anteile der vorhandenen Stellungs-Isomeren gestatten. Da man für den gaschromatographischen Nachweis nur sehr wenig Substanz braucht, genügt es, geringe Mengen der Fettsäureester zu oxydieren, um vollständige und quantitative Aufschlüsse über die Art der Spaltprodukte zu erhalten.

Im Laufe des letzten Jahres wurden von mir mehr als 1500 gaschromatographische Analysen durchgeführt, die hauptsächlich Produkte betrafen, die bei der Aufklärung der Feinstruktur von Fetten anfielen.

J Zusammenfassung

Die Gaschromatographie ist seit einigen Jahren zu einem bevorzugten Verfahren für die Analyse von Fettsäuregemischen geworden. Die Entwicklung der Methode für dieses Aufgabengebiet ist aber noch nicht abgeschlossen. Die bei der Analyse von Fettsäuremethylestern notwendigen hohen Temperaturen stellen besondere Ansprüche an die thermische Stabilität der Trennsäulen und an die Güte der Detektoren.

Das Ziel der Arbeit war darauf gerichtet, Gaschromatographen zu finden, die den besonders hohen Forderungen der Analyse von Fettsäureestern entsprechen. Folgende Einzelaufgaben wurden bearbeitet:

1. Ein früher erstellter Gaschromatograph, der für das Arbeiten bei niederen Temperaturen mit einer Thermistor-Wärmeleitzelle ausgerüstet war, wurde mit einer Hitzdraht-Wärmeleitzelle versehen, um Temperaturen bis über 200 °C erreichen zu können. Auch das Gas-Umleitungssystem des vorhandenen Chromatographen mußte geändert werden. Durch eine besondere Konstruktion der Hähne gelang es, dauernde Dichtigkeit auch bei hohen Temperaturen zu erreichen.

   Ein grundsätzlicher, mit steigender Temperatur stark zunehmender Mangel der Wärmeleitzellen liegt darin, daß die Anzeigen allzu abhängig von der Strömungsgeschwindigkeit des Gases und von der Konstanz der Temperatur sind. Deshalb wurden andere, damals eben erst beschriebene Detektoren untersucht.

2. Der von McWilliam und Dewar entwickelte, auf Flammen-Ionisation beruhende Detektor zeigte in einer auf Grund zahlreicher Versuche von mir ermittelten Bauform, mit gefüllten Trennsäulen und bei hohen Temperaturen betrieben, eine sehr gute Konstanz des Nullstromes bei hohen Anzeigeempfindlichkeiten. Das Gerät ist wegen seiner großen Meßbreite auch für die Spurensuche geeignet.

3. Durch Umkehren der Polung dieses Flammen-Ionisations-Detektors ließen sich unter Anwendung verschiedener Potentiale Anzeigeempfindlichkeiten erzielen, die von der Art und der eingesetzten

Menge der zu analysierenden Stoffe in charakteristischer Weise abhängig waren. Für spezielle Aufgaben, z.B. das Steuern von Vorgängen nach dem Ergebnis einer gaschromatographischen Analyse, könnte diese Anordnung besondere Vorteile bieten.

4. Neben der Flammen-Ionisation wurde auch die von Lovelock entwickelte Methode der ß-Strahlen-Ionisation im Argonstrom geprüft. Unter Verwendung einiger handelsüblicher, von der Firma Pye gelieferter Apparateteile wurde ein Chromatograph gebaut. Nachdem die Aufgabe gelöst war, die sehr kleinen Probenmengen sicher einzuspeisen, arbeitete das Gerät einwandfrei. Die Empfindlichkeit der Anzeige glich etwa der durch Flammen-Ionisation erreichten, die Konstanz des Nullstromes war gut. Als etwas nachteilig erwies sich die relativ geringe Meßbreite des Detektors. Im ganzen leistete das Gerät für Routine-Analysen wertvolle Dienste.

5. Für präparative Trennungen wurde ein Gaschromatograph erstellt, der für Einsätze von einigen Milligramm bis zu etwa einem Gramm diente. Er wurde mit einem Flammen-Ionisations-Detektor ausgerüstet, der in einen Nebenzweig gelegt wurde und nur verschwindend geringe Substanzmengen verbraucht. Für die getrennten Proben wurde eine Wechselvorlage mit mehreren Auffang-Gefäßen angeschlossen.

6. Umfangreiche Versuche wurden darauf gerichtet, geeignete Trennsäulen für Fettsäuremethylester zu finden. Mehrere Trägersubstanzen wurden geprüft. Es ergab sich, daß man den Träger jeweils nach der vorliegenden Aufgabe wählen und daß man im Bedarfsfalle seine adsorptiven Kräfte durch eine besondere Behandlung unschädlich machen mußte. Weiter wurde die Eignung von Polyestern verschiedener Art als stationäre Flüssigkeiten untersucht. Diglykol-Succinat-Polyester und Reoplex-400 bewährten sich als stark bzw. mäßig polarer Stoff besonders. Für die Identifizierung der Fettsäureester nach den geschriebenen Diagrammen wurden die relativen Retentionsvolumina reiner Methylester, bezogen auf den der Myristinsäure, für verschiedene Säulenfüllungen in Abhängig-

keit von der Temperatur gemessen und tabellarisch zusammengestellt.

Die entwickelten Geräte dienten auch praktisch für Untersuchungen, die im hiesigen Institut über die Zusammensetzung natürlicher Fettsäuregemische durchgeführt wurden. Insgesamt habe ich im Laufe dieser Arbeit mehr als 1500 gaschromatographische Analysen verschiedenster Art durchgeführt.

K Literaturverzeichnis

1) H.Oertel, Diplomarbeit, Hamburg 1959

2) J.E.Lovelock,J.Chromatog. 1, 35 (1958)

3) McWilliam, R.A.Dewar, Natur (London) 181, 760 (1958)

4) A.J.P. Martin, A.T.James, Biochem.J. 50, 679 (1952)

5) A.I.M. Keulemans, Gaschromatographie, Springer-Verlag, Berlin 1959

6) E.Bayer, Gaschromatographie, Springer-Verlag, Berlin 1959

7) R.Kayser, Gaschromatographie, Akad.Verlag-Gesellschaft Geest & Portig, Leipzig 1960

8) L.Onkiehong, Gas-Chromatography 1960, ed.R.P.W. Scott, Butterworths Sci.Publ. London (1960) s.7

9) Stern, Combustion,Flames,Explosions, Academic Press, New York 1951

10) R.D.Condon,P.R.Scholly,W.Averill, Gas-Chromatography 1960 ed.R.P.W.Scott, Butterworths Sci.Publ. London (1960) s.30

11) D.H.Desty,G.J.Geach,D.Goldup,Gas-Chromatography 1960 ed.R.P.W.Scott, Butterworths Sci.Publ. London (1960) s.46

12) I.Halasz,G.Schreyer,Chemie Ing.Techn. 32, 675 (1960)

13) J.J.Kirkland, Gas-Chromatography 1957, ed.v.J.Coates, H.Noebels,I.Fargerson, Academic Press Inc., New York 1958

14) E.Bayer, Witsch,Z.anal.Chem. 170, 278 (1959)

15) T.Johns, Gas-Chromatography 1960 ed.R.P.W.Scott, Butterworths Sci.Publ. London (1960)

16) A.J.P.Martin,R.L.M.Synge, Biochem.J. (London) 35, 1358 (1941)

17) E.Glueckauf,Trans.Farad.Soc. 51, 34 (1955)

18) J.J.van Deemter,F.J.Zuiderweg, A.Klinkenberg Chem.Eng.Sci. 5, 271 (1956)

19) G.Schay, Theoretische Grundlagen der Gaschromatographie VEB Deutscher Verlag d. Wissenschaften, Berlin 1960

20) R.P.W.Scott, Gas-Chromatography 1960, Butterworths Sci.Publ. London (1960)

21) M.Dimbat,P.Porter,F.Stroß, Anal.Chem.28 290 (1956)

22) A.T.James,A.J.P.Martin, Biochem.J.63, 144 (1956)

23) S.R.Lipsky, Chem.Eng,News 36(5), 45 (1958)

24) J.C.Hawke,R.P.Hansen,F.B.Shorland,J.Chromatog.2, 547 (1959)

25) A.T.James, J.Chromatog. 2, 552 (1959)

26) W.Roth, Dissertation, Hamburg (1961)

27) B.Kuchenbuch, Dissertation, Hamburg (in Vorbereitung)

28) E.Jantzen,H.Andreas,Chem.Ber.92,1427 (1959);94,628 (1961)

Lebenslauf

Am 17. Juli 1930 wurde ich als Sohn des Kaufmannes Willy Oertel in Magdeburg geboren. Ich besuchte die Grundschule in Finkenheerd bei Frankfurt/Oder und bis zum Kriegsende die Oberschule in Frankfurt/Oder. An der Oberschule Bitterfeld legte ich im Juni 1949 die Reifeprüfung ab. Im Wintersemester 1949/50 begann ich das Studium der Chemie an der Humboldt-Universität in Berlin. Nach drei Semestern wechselte ich an die Universität Hamburg, erhielt meine Zulassung zum Wintersemester 1951/52 und legte im März 1959 die Diplomprüfung ab. Meine Diplomarbeit unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. E. Jantzen befaßte sich mit der "Gaschromatographie und ihrer Anwendung zur Analyse von Fettsäuren". Anschließend nahm ich die Arbeiten für die vorliegende Dissertation auf. Während meines Studiums besuchte ich die Vorlesungen und Praktika folgender Dozenten: Thilo, Ritschl, Ramdohr, Grell, Mellerowicz, Jahr, Dersch, Remy, Bode, Jantzen, Briegleb, Fleischmann, Heyns, Hartek, Schlubach, Holleck, Wicke, Henzler, Otremba.

Hans Oertel

Druck: Photo-Copie GmbH Hamburg 1